



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE**

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**BARIÉROVÉ VLASTNOSTI HYDROGELŮ**

BARRIER PROPERTIES OF HYDROGELS

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Bc. Michal Královič**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.**

**BRNO 2017**

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1010/2016  
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie  
Student: **Bc. Michal Královič**  
Studijní program: Spotřební chemie  
Studijní obor: Spotřební chemie  
Vedoucí práce: **prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.**  
Akademický rok: 2016/17

### Název diplomové práce:

Bariérové vlastnosti hydrogelů

### Zadání diplomové práce:

Seznámit se s problematikou bariérových vlastností hydrogelů obohacených aktivními látkami, literární rešerše. Zvolit vhodný způsob studia, vybrat systémy vhodné pro studium a metody analýzy. Navrhnout a realizovat vlastní experimenty, zpracovat data a vyvodit závěry ze získaných výsledků.

### Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2017

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

-----  
Bc. Michal Královič  
student(ka)

-----  
prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

**ABSTRAKT:**

Hlavním cílem diplomové práce je posoudit bariérové vlastnosti hydrogelů. Bylo zkoumáno celkem 6 druhů agarosových hydrogelů, z nichž 5 druhů gelu bylo obohacených o huminové kyseliny izolované z různých zdrojů. Huminové kyseliny byly vybrány z nabízených standardů společnosti IHSS, konkrétně šlo o vzorky Leonardite, Elliott Soil, Suwannee River, Pahokee Peat a Nordic Lake. Za pomoci UV–VIS spektrometrie byla sledována koncentrace měďnatých iontů, které sloužily jako difúzní roztok. Výsledky difúzních koeficientů byly vyhodnoceny několika difúzními metodami. Byla použita metoda difúze v rovinné desce a tři možná řešení difúze konstantního zdroje.

**ABSTRACT:**

The main objective of this thesis is to judge the barrier properties of hydrogels. It was examined in total six kinds of agarose hydrogels, of which five kinds of gels was enriched with humic acids isolated from various sources. Humic acids were selected from IHSS standards, specifically Leonardite, Elliott Soil, Suwannee River, Pahokee Peat and Nordic Lake. Using UV-VIS spectrometry, copper ion concentrations were used to serve as a diffusion solution. Results of diffusion coefficients were evaluated by several diffusion methods. The method of diffusion in the plane of the board and three possible diffusion solutions of the constant source were used.

**KLÍČOVÁ SLOVA:**

huminové, kyseliny, difúze, těžké kovy, měď, hydrogel,

**KEYWORDS:**

humic, acid, diffusion, heavy metals, copper, hydrogel,

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně a všechny použité literární zdroje jsem odcitoval správně a úplně. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....  
Michal Královič

*Na tomto místě bych rád poděkoval vedoucí diplomové práce prof. Ing. Martině Klučákové, Ph.D. za cenné rady, energii a čas. Rád bych také poděkoval rodině a přátelům za psychickou podporu, kterou mi poskytovali v těžkých chvílích.*

# 1 Obsah

<b>2</b>	<b>ÚVOD</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST</b>	<b>8</b>
3.1	HUMINOVÉ LÁTKY	8
3.1.1	<i>Zdroje standardů huminových látek</i>	9
3.1.2	<i>Vznik</i>	10
3.1.3	<i>Struktura a vlastnosti</i>	14
3.1.4	<i>Dělení</i>	16
3.1.5	<i>Využití a funkce</i>	17
3.1.6	<i>Huminové kyseliny</i>	20
3.1.7	<i>Vazebné možnosti huminových kyselin</i>	21
3.2	GELY	22
3.2.1	<i>Vznik a dělení</i>	23
3.2.2	<i>Vlastnosti a využití</i>	27
3.2.3	<i>Hydrogely na bázi huminových látek</i>	28
3.3	DIFÚZE	29
3.3.1	<i>Popis děje</i>	29
3.3.2	<i>Fickovy zákony a známá řešení</i>	29
3.3.3	<i>Další případy difúze</i>	30
3.4	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	33
3.4.1	<i>Difuzivita měďnatých iontů v huminovém gelu</i>	33
3.4.2	<i>Sorpce <math>\text{Cu}^{2+}</math> iontů na huminové kyseliny izolované ze sedimentu</i>	34
3.4.3	<i>Difúzní charakteristika agarosového hydrogelu</i>	34
3.4.4	<i>Vliv molekulové hmotnosti huminových látek na difúzní koeficient</i>	34
3.4.5	<i>Vliv karboxylových skupin huminových kyselin na vazbu organických sloučenin</i>	35
<b>4</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST</b>	<b>37</b>
4.1	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ	37
4.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	37
4.3	PŘÍPRAVA ROZTOKU HUMINOVÉ KYSELINY	37
4.1	PŘÍPRAVA DIFÚZNÍCH ROZTOKŮ	38
4.2	PŘÍPRAVA AGAROSOVÝCH HYDROGELŮ	38

4.3	SORPCE $\text{Cu}^{2+}$ DO GELU	38
4.4	SORPCE $\text{Cu}^{2+}$ Z GELU	39
4.5	SPEKTROFOTOMETRICKÁ MĚŘENÍ	39
4.6	KALIBRAČNÍ ŘADY	40
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSE</b>	<b>41</b>
5.1	CHARAKTERIZACE HUMINOVÝCH KYSELIN	41
5.2	SLEDOVÁNÍ SORPCE $\text{Cu}^{2+}$ DO GELU	42
5.3	VYHODNOCENÍ DIFÚZNÍCH EXPERIMENTŮ	43
5.4	VÝSLEDKY DIFÚZNÍCH EXPERIMENTŮ	49
<b>6</b>	<b>ZÁVĚR</b>	<b>54</b>
<b>7</b>	<b>SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY</b>	<b>55</b>
<b>8</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b>	<b>58</b>
8.1	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ	58
8.2	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	58

## 2 ÚVOD

Půda je složitý systém, který obsahuje organickou hmotu včetně živých organismů a anorganických materiálů, jako je písek, prach nebo jíla. Organická hmota zlepšuje strukturu půdy a zvyšuje schopnost zadržovat v půdě vodu a živiny, díky kterým mohou v půdě existovat živé organismy. Z tohoto a mnoho dalších důvodů je půdní organická hmota nezbytná pro život na Zemi. Huminové látky společně s ostatními frakcemi jsou nedílnou součástí organické hmoty. Patří mezi biokoloidní sloučeniny a jsou nejrozšířenější organický materiál na zemském povrchu. Právě to z nich činí levné a snadno dostupné látky se širokým uplatněním. V přírodě je můžeme nalézt ve formě koloidních roztoků nebo v pevné formě, jako součást organominerálního komplexu. Huminové látky se dělí do tří frakcí na fulvinové kyseliny, huminové kyseliny a nerozpustné huminy. Rozdělení souvisí především s rozpustností jednotlivých frakcí, avšak liší se i dalšími vlastnostmi jako je pH, obsah funkčních skupin nebo velikost molekul. Přesnou strukturu huminových látek nelze zjistit, neboť se liší od zdroje a způsobu extrakce, přesto jsou si svými vlastnostmi podobné.

Zájem a pozornost si tyto látky získaly díky svým unikátním vlastnostem, které se dají aplikovat v různých oborech od klasického zemědělství po medicínu nebo průmysl. Využít se dá například jejich schopnost regulovat mobilitu iontů, ať už těžkých kovů nebo biogenních prvků.

Právě mobilitou těžkých kovů v huminovém agarosovém hydrogelu se zabývá tato diplomová práce.

## 3 TEORETICKÁ ČÁST

### 3.1 Huminové látky

Huminové látky jsou nejrozšířenější a všudypřítomné přírodní neživé organické materiály v půdních a vodních ekosystémech. Podílí se na chemii, biologických cyklech a biologické dostupnosti prvků, stejně jako na mobilizaci a degradaci cizorodých a přírodních organických látek. Tvoří komplexy s ionty více než padesáti prvků periodické tabulky, včetně těžkých kovů i biogenních prvků. Mohou adsorbovat pesticidy, zbytky léčiv a jiné polutanty.

Většinou vznikají pomocí aerobního nebo anaerobního rozkladu rostlinných nebo živočišných zbytků. Vznikají také synteticky z menších organických molekul. Protože se huminové látky liší stářím, vznikem i různým původním materiálem, jsou jejich struktury složité a těžko charakterizovatelné. Obecně obsahují velký počet aromátů, který se pohybuje odhadem od 20 do 40 %. Dále jsou bohaté na funkční skupiny, které zahrnují fenoly a další alkoholy, ketony, chinony, aldehydy, karboxylové kyseliny. Mohou také obsahovat aminoskupiny, nitroskupiny nebo sirné subjekty jako jsou merkaptany, sírany a sulfonany. Stárnutím se v huminových látkách zvyšuje obsah aromátů a snižuje se zastoupení polysacharidů a derivátů ligninu. [1]

Chemické složení se liší mírou prouhelnění, které silně závisí na teplotě, tlaku a době trvání. To má za následek fyzikálně-chemické a biochemické změny. Mezi hlavní fyzikální změny patří zvýšení kompaktnosti, tvrdosti a ztmavnutí barvy přes odstíny žluté, hnědé až černé. Ztráta vlhkosti a obsahu těkavých látek spolu se zvýšením obsahu uhlíku patří naopak mezi změny chemické. Při biochemickém prouhelnění probíhá částečná oxidace a hydrolytická dekompozice nahromaděných mrtvých rostlinných a živočišných tkání. Tato mikrobiální a chemická změna se odehrává v horní vrstvě půdy za účasti aerobních bakterií a hub. Se zvyšující se vrstvou půdy tento proces přebírají anaerobní bakterie. Chemické změny představují zejména kondenzační polymerace a redukční reakce. Tento proces vzniku huminových látek se označuje jako humifikace.

V poslední době se začala většina vědců přiklánět k možnosti, že huminové látky jsou směsí alifatické a aromatické struktury, které mají původ na základě ligninu a polysacharidu. Nově se objevují teorie, které dávají přednost možnosti vzniku mikrobiální cestou. Obrovské pokroky v poznání huminových látek byly provedeny v posledních dvaceti letech v důsledku zavádění nových a moderních fyzikálně-chemických metod. Nicméně, i přes velký pokrok se strukturní chemie ligninu a huminových látek neposunul tak daleko jako například výzkum biopolymerů živočišného původu. [1]



Na začátku osmdesátých let vznikla mezinárodní společnost pro huminové látky IHSS (International Humic Substances Society) aby pomohla vědcům zabývajícím se půdou, vodou a uhlím se zaměřením na huminové látky. Cíle společnosti zahrnují zřízení a udržování kolekce standardních vzorků huminových látek z lignitu, sladkých vod, minerálních a organických půd. Dále se věnuje shromažďování, charakterizaci dat a přidávání referenčních vzorků sloužících jako zdroje huminových látek k výzkumu.[2]

Podle definice musí standardní vzorek IHSS splňovat čtyři následující kritéria:

- Vzorek musí pocházet z míst speciálně určených IHSS pro tyto účely.
- Vzorek musí být upraven a zpracován metodou vyvinutou IHSS.
- Předchozí kroky musí být provedeny pod přímým dohledem IHSS.
- Vzorek musí být označen jako standard IHSS.

Pokud dojde k vyčerpání existující nabídky je schopná tato společnost vytvořit vzorky nové dávky huminových a fulvinových kyselin jsou si podobné, avšak nemusí být zcela identické. Hlavními výhodami těchto standardních zdrojů huminových kyselin jsou: [2]

- Jsou přístupné pro výzkumníky z celého světa.
- Všechny materiály pochází z pečlivě vybraných a specifikovaných míst.
- Všechny vzorky jsou izolovány pečlivě řízenými a kontrolovanými postupy, které jsou plně zdokumentovány.
- Všechny materiály jsou důkladně homogenizovány.

### **3.1.1 Zdroje standardů huminových látek**

IHSS používá pro vytváření čtyř standardních vzorků tyto zdroje, které jsou podrobněji představeny v následujících kapitolách.

#### **3.1.1.1 *Leonardite***

Je produkt hnědého uhlí nebo uhlí nižší kvality, který byl vystaven přirozené oxidaci. Vzorek IHSS byl získán z dolu Gascoyne v Severní Dakotě.

#### **3.1.1.2 *Elliot Soil***

Tato huminová kyselina byla izolována z půdy v neporušené oblasti muničního závodu poblíž města Joliet. Jedná se o úrodné prérijní půdy, které jsou typické pro státy Indiana, Illinois a Iowa. Řada Elliot se skládá z velmi hlubokých a špatně odvodněných půd rozkládající se od morén po tillem tvořené pláně. Morény jsou kamenné valy vzniklé ledovcovou činností a jsou složeny z balvanů až po malé jílovité části. Sediment, který se vytváří, se označuje jako till.

#### **3.1.1.3 *Suwannee River***

Řeka Suwannee pramení v Jižní Georgii a teče na jihozápad do Mexického zálivu. Močál Okefenokee, ve kterém řeka přímo pramení, obsahuje rozsáhlé rašeliniště. Vegetace rozkládající se v močálu je zdrojem většiny rozpuštěného organického uhlíku v této řece.

#### **3.1.1.4 *Pahokee Peat***

Jak už název napovídá, tato huminová kyselina pochází ze zemědělsky využívané rašelinové zeminy. Pro tyto půdy je charakteristické špatné odvodnění z důvodu přibližně metr tlusté vápencové vrstvy. Pahokee Peat se vytvořil v organických ložiscích sladkovodních bažin. Vzorky IHSS jsou získávány z Floridské Univerzity v Belle Glade [2]

#### **3.1.1.5 *Nordic Lake***

Tento vzorek huminové kyseliny pochází z malého jezírka Hellrudmyra vzniklého ledovcovou činností nacházející se v malé odloučené pánvi poblíž norského hlavního města Osla. Voda z jezírka slouží už 30 let jako referenční pro mnoho výzkumů humusu v Norsku. Obsah rozpuštěného organického uhlíku se pohybuje v rozsahu  $10\text{--}25 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  a hodnota pH se nachází mezi 4,0 až 4,9. [2]

Huminové látky jsou hlavní součástí přírodní organické hmoty. Jsou obsaženy v půdě a vodě, a také v geologických organických ložiscích, jako jsou jezerní sedimenty, rašelina a hnědé uhlí. V půdních a vodních ekosystémech mají vliv na chemii, koloběh a biologickou dostupnost prvků, stejně jako dopravu a degradaci cizorodých a přírodních organických látek. Přispívají k charakteristickému hnědému až černému zabarvení půdy. Ve sladkovodních jezerech, rybnících a řekách je ze všech rozpuštěných organických materiálů asi polovina huminových látek, díky tomu mají vodní systémy žlutý až hnědý nádech. Huminové látky jsou velice důležitými složkami půdy, které ovlivňují fyzikální a chemické vlastnosti, a tím například zlepšují úrodnost půdy. [3]

### **3.1.2 Vznik**

Tvorba huminových látek je jednou z nejméně probádaných stránek půdní chemie a zároveň jednou z nejdůležitějších. Studie na toto téma jsou dlouholeté a náročné na kontinuitu. Huminové látky obecně vznikají procesem zvaným humifikace, tedy přeměnou surových organických látek na půdní humus. Vlivem půdní mikrofauny a mikroflóry dochází ke složitým přeměnám odumřelých organických látek. Obecně jde o oxidační proces zahrnující aromatizaci, kondenzaci, fenolické oxidační syntézy, demethylaci, oxidaci rostlinných polyfenolů atd. Většina vědců se přiklání ke dvěma hlavním možnostem vzniku, a to degradační teorii, kdy dochází k degradaci rostlinných biopolymerů, a syntetické, při které dochází ke kondenzaci a polymerizaci degradovaných menších molekul. Felbeck uvádí další čtyři hypotetické teorie vzniku huminových látek, avšak existuje mnoho teorií jejich vzniku a je jen otázkou podmínek (vlhkosti, teplotou, stářím, původem, atd.), který z mechanismů bude převládat. [4, 5, 6, 7]

#### **3.1.2.1 *Degradační teorie***

Degradační teorie je založena na degradaci odumřelého rostlinného materiálu mikrobiálním rozkladem, kdy z těžko rozložitelných látek vznikají vysokomolekulární huminy. Ty se pak postupně oxidují na huminové kyseliny, dále na fulvokyseliny a menší molekuly. Degradační proces může pokračovat, až jsou huminové kyseliny postupně rozloženy na oxid uhličitý a vodu. [5]

### **3.1.2.2     *Syntetická teorie***

Tato teorie popisuje vznik huminové kyseliny z malých molekul (karboxylové kyseliny, fenoly, atd.), které jsou produktem degradace rostlinných tkání.

Oba tyto procesy pravděpodobně probíhají zároveň a záleží na prostředí, která z těchto teorií bude upřednostněna. [5]

### **3.1.2.3     *Hypotéza vzniku změnou rostlin***

Části rostlinných tkání, zahrnující například zdřevnatělé tkáně, jsou odolné mikrobiálnímu rozkladu a jsou v půdě pozměněny pouze povrchově za vzniku huminových látek. Charakter huminových látek se silně odvíjí od povahy původního rostlinného materiálu. Během první fáze humifikace jsou vytvořeny huminové kyseliny a huminy s vysokou molekulovou hmotností. Ty se následně rozkládají na fulvokyseliny a nakonec na CO<sub>2</sub> a vodu. [8]

### **3.1.2.4     *Hypotéza chemické polymerace***

Rostlinné materiály jsou mikroby rozkládány na malé molekuly, které dále využívají jako zdroj uhlíku a energie. Mikroby syntetizují fenol a aminokyseliny, jež jsou vylučovány do okolního prostředí, kde jsou dále oxidovány a polymerizovány na huminové kyseliny. Povaha původního rostlinného materiálu nemá vliv na typ huminové látky, která je tímto procesem vytvořena. [8]

### **3.1.2.5     *Hypotéza vzniku buněčnou autolýzou***

Huminové látky jsou produktem autolýzy zbytků rostlin a mikrobiálních buněk. Výsledná buněčná směs (cukry, aminokyseliny, fenoly a další aromatické složky) kondenzuje a polymerizuje pomocí volných radikálů. [8]

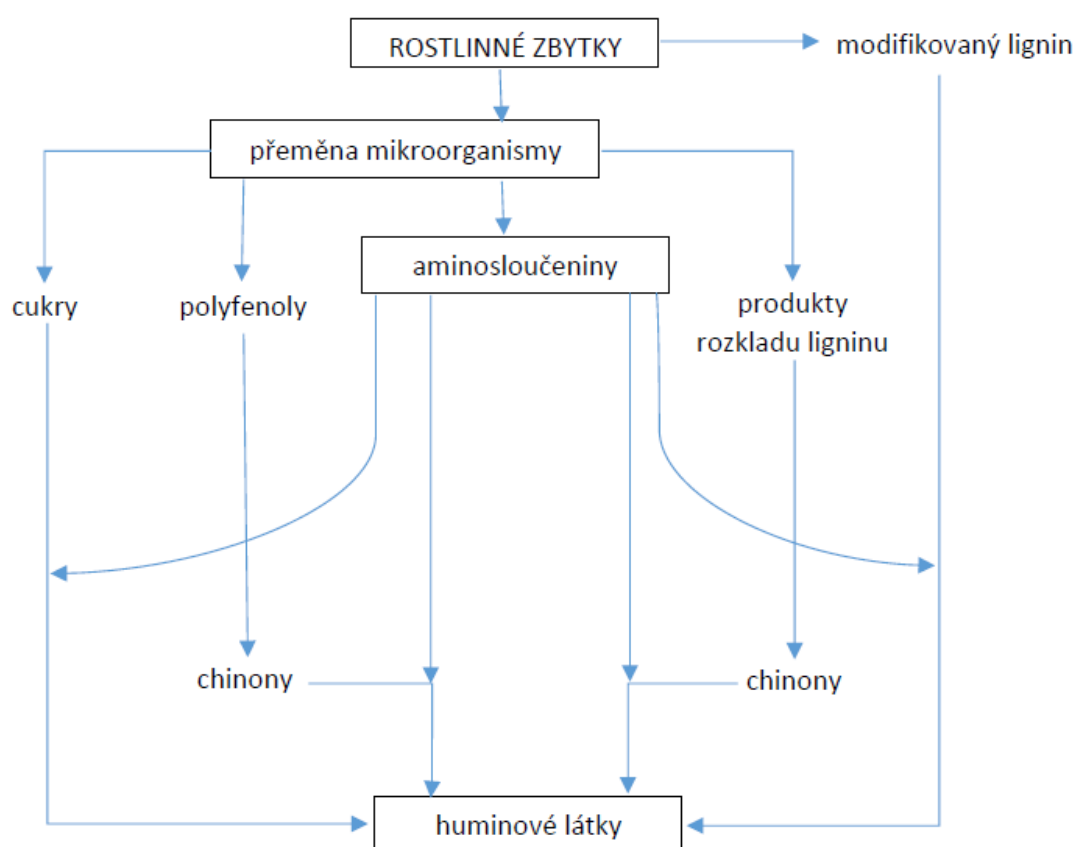
### **3.1.2.6     *Hypotéza vzniku mikrobiální syntézou***

Mikroby využívají rostlinné tkáně jako zdroj uhlíku a energii k vnitrobuněčné syntéze vysokomolekulárních huminových látek. Po úmrtí mikrobů dojde k uvolnění těchto látek do půdy. Vysokomolekulární látky tedy reprezentují první fázi humifikace s následující mimobuněčnou degradací na huminové látky a dále na CO<sub>2</sub> a vodu. [8]

Dalším přístup k mechanismu teoretického vzniku je propagován Waksmanem. Zakládá se na tom, že huminové látky představují modifikované ligniny. Přesto většina vědců dává přednost drahám zahrnující chinony. V praxi opět existují všechny dráhy a všechny mají svojí důležitost, včetně kondenzace sacharidů a aminů, viz obrázek 1. Ligninová dráha může převládat ve špatně odvodněných půdách a vlhkých sedimentech (bažiny, močály, atd.), zatímco syntéza z polyfenolů může převládat v lesních půdách. Prudké a časté výkyvy teplot, vlhkosti a ozařování povrchových půd mohou v drsném podnebí favorizovat syntézu kondenzací sacharidů s aminy. [7]

### 3.1.2.7 Ligninová teorie

Podle této teorie je lignin neúplně využit mikroorganismy a zbytek se stává součástí humusu. K modifikaci v ligninu dochází ztrátou methoxylových skupin s tvorbou *o*-hydroxyfenolů. Dále probíhá oxidace alifatických postranních řetězců za vzniku karboxylových skupin. Modifikovaný lignin se podrobuje dalším blíže nesespecifickým změnám, čímž dojde k vytvoření huminových kyselin a dalším rozkladem na menší molekuly vznikají fulvinové kyseliny. I když je lignin hůře rozložitelný mikroorganismy než ostatní složky rostlin, existují v přírodě mechanismy pro jeho úplné rozložení aerobní cestou. V opačném případě se nerozložené zbytky rostlin hromadí na povrchu půdy a obsah organických látek v půdě se postupně zvyšuje až do vyčerpání CO<sub>2</sub> z atmosféry. Teorie o schopnosti půdních organismů degradovat lignin nebyla v některých kruzích přijata a příspěvek ligninu k humusu je tak přehnaný. V provzdušněných půdách může za normálních okolností docházet k rozložení ligninu na produkty s nižší molekulovou hmotností předtím, než dojde k vytvoření humusu. Na druhé straně houby, které degradují lignin, se běžně vyskytují v mokrých sedimentech. Proto je logické předpokládat, že modifikovaný lignin může významně přispívat k humusu rašeliny, jezerních sedimentů a špatně odvodněných půd. [7]



Obrázek 1: Schéma možných cest vzniku huminových kyselin [7]

### **3.1.2.8 Polyfenolová teorie**

Tuto teorii můžeme rozdělit na dvě dráhy. V první hraje lignin stále důležitou roli při syntéze humusu, ale jiným způsobem. V tomto případě fenolické aldehydy a kyseliny uvolněné z ligninu v průběhu mikrobiologického napadení podstupují enzymatickou konverzi na chinony, které polymerizují v přítomnosti nebo nepřítomnosti aminosloučenin za vzniku molekul podobným huminovým látkám. [7]

Druhá dráha je blízká první, s tím rozdílem, že polyfenoly nejsou syntetizovány z ligninu jako zdroje uhlíku, ale využívají například celulózu. Polyfenoly jsou enzymaticky oxidovány na chinony a následně přeměněny na huminové látky. Chinony vzniklé z ligninu jsou spolu s chinony syntetizovány mikroorganismy hlavními elementy tvořící huminové látky. [7]

Tvorba hnědě zbarvené látky reakcí zahrnující chinony není vzácná. Jedná se o velice známý jev odehrávající se při tvorbě melaninu, například ve zralém ovoci a zelenině po mechanickém poškození a během tvorby osetí. Možné zdroje fenolů pro syntézu humusu zahrnují lignin, mikroorganismy, fenoly z rostlin a tanin. Ovšem pouze první dva zdroje mají opravdový význam. Úloha mikroorganismů jako zdroje polyfenolů je ta, že huminové látky jsou vytvořeny pomocí myxobakterie, která rozkládá celulózu ještě před rozkladem ligninu. [7]

### **3.1.2.9 Kondenzace sacharidů s aminy**

Myšlenka, že humus by mohl být tvořen ze sacharidů, je stejně stará jako půdní chemie. Podle této teorie se cukry a aminokyseliny, vytvořené jako vedlejší produkt mikrobiálního metabolismu, podrobí neenzymatické polymeraci za vzniku hnědého dusíkatého polymeru. Tento typ polymerů vzniká také během dehydratace některých potravinářských výrobků při mírných teplotách. Hlavním problémem této teorie je, že reakce probíhá pomaleji za teploty, která bývá obvyklá v běžných půdních podmínkách. Nicméně, drastické a časté změny v půdním prostředí (zmrazování a rozmrazování, zvlhčování a sušení) společně s promícháváním reakčních složek s minerálními materiály s katalytickými vlastnostmi může kondenzaci usnadnit. Sympatickým rysem teorie je, že reaktanty, tedy cukry a aminokyseliny, jsou vyráběny ve velkém množství prostřednictvím činnosti mikroorganismů. [7]

S původem a vznikem huminových látek souvisí i jejich obsah v přírodních materiálech, které jsou uvedeny v tabulce 1. [4]

*Tabulka 1: Přehled obsahu huminových látek v různých přírodních zdrojích [4]*

<b>přírodní zdroj</b>	<b>obsah huminových a fulvinových kyselin [hm. %]</b>
Leonardit/Humát	40–85
Černá rašelina	10–40
Hnědé uhlí	10–30
Sapropelová rašelina	10–20
Hnůj	5–15
Kompost	2–5
Půda	1–5
Kal	1–5
Černé uhlí	0–1

### **3.1.3 Struktura a vlastnosti**

Chemické a koloidní vlastnosti lze studovat pouze v odděleném stavu, tedy když se zbavíme anorganických složek půdy. A proto v první řadě musíme oddělit organickou hmotu od písku a jílu. [9]

Charakterizovat huminové látky je nelehký úkol. Velkou překážku vytváří skutečnost, že huminové látky vznikají různými cestami, z různých zdrojů a získáváme je odlišnými způsoby izolace. Svou roli hraje i způsob analýzy, během které můžeme dojít k rozdílným výsledkům. Jako nejčastější metody pro získání informací o struktuře a složení se využívají viditelné, infračervené a NMR spektroskopie, elementární analýza a degradační metody. [9]

Znalost základní struktury huminových látek je nutná pro pochopení úlohy a funkce těchto látek v životním prostředí. Vzhledem k mnohočetnosti molekul složek, z nichž se huminové látky skládají, společně s mnoha typy vazeb, kterými jsou vázány dohromady, je odvození přesného strukturního vzorce prakticky nemožné. Avšak bylo vytvořeno několik hypotetických strukturních vzorců, které by měly sloužit jako vodítko k dalšímu bádání. Odvozené hypotetické vzorce slouží jako prostředek pro zastupování průměrných vlastností huminových látek a pomoc při vytváření nových hypotéz směrem k jejich struktuře a novým experimentům. Dále pomáhají ilustrovat mechanismy vázání kovových iontů a xenobiotik. [10]

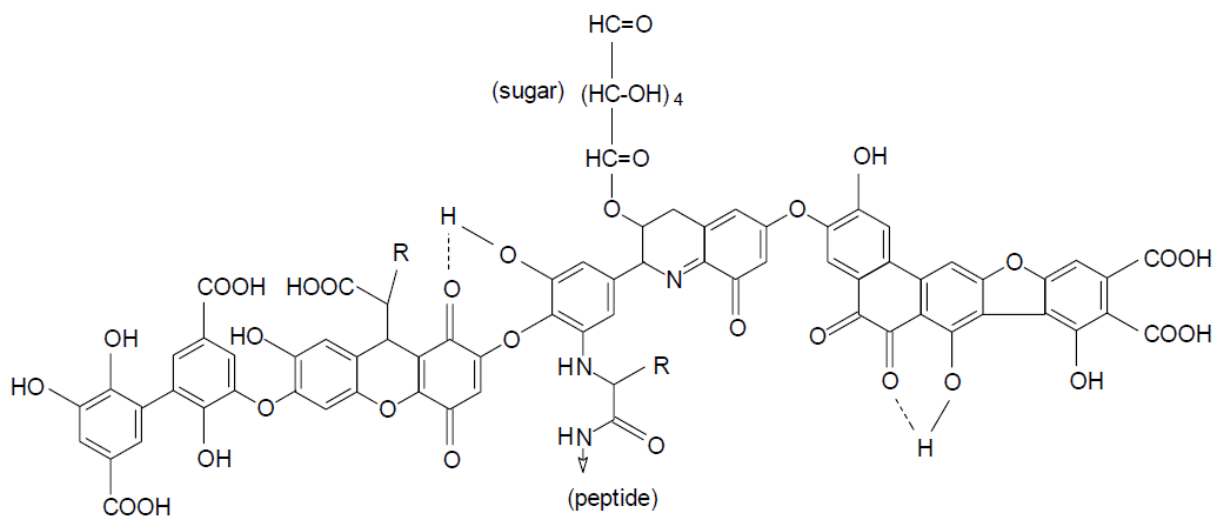
Z hlediska koloidní chemie se vyskytují dva přístupy k pochopení povahy huminových látek. Nelze s jistotou říci, jestli se jedná o makromolekuly nebo supramolekulární systémy. Supramolekulární systémy se skládají ze sloučenin o nízké molekulární hmotnosti, které jsou vázány četnými ale zároveň slabými nekovalentními vazbami. Pokud jsou ve složení detekovány nízkomolekulární látky, je obvykle vyvozen závěr o jejich supramolekulární povaze. Skutečná situace je složitější a lze předpokládat, že huminové látky se vyskytují někde mezi oběma systémy. Struktura huminových látek je dynamická a může se měnit v závislosti

na okolních vlivech se změnou fyzikálně-chemických parametrů. Míra agregace roste například s klesající hodnotou pH a rostoucí koncentrací iontů. Velikost systému může dále ovlivňovat specifické vazby se stopovými prvky a jejich migraci v půdě. [11, 12]

Půda a další soustavy obsahující huminové látky jsou tvořeny nízkomolekulárními organickými sloučeninami, které vznikají degradací biopolymerů. Proto je pravděpodobné, že látky jako cukry, aminokyseliny, peptidy, tuky a produkty transformace ligninu budou součástí huminových látek, které mohou zajišťovat spojení mezi aromatickými skupinami. [12]

Hlavním stavebním kamenem těchto sloučenin jsou prvky C, O, a H. V menším ale neméně důležitým měřítku, mohou obsahovat dusík a síru. Struktura huminových látek se skládá z aromatických a hydroaromatických di-, tri-, a tetra- kyselin. Dále obsahují volné a vázané fenolické skupiny, chinonové struktury, dusíkové a kyslíkové atomy, které mají funkci můstků, a karboxylové skupiny vázané na aromatických kruzích. Tyto komplexní aromatické makromolekuly s molekulovou hmotností kolem 2000 až 200 000, mají polyaniontový charakter a mohou tedy vázat ionty různými mechanismy. [13]

První hypotetické struktury byly předloženy v roce 1972 Stevensonem a o rok později Harworthem. Tyto struktury byly hlavně díky pokroku v instrumentální analýze nahrazeny novými a přesnějšími modely. Jedna z mnoha uváděných struktur huminové kyseliny je na obrázku 2, kde za R můžeme dosadit aryl, alkyl nebo aralkyl. [13]



Obrázek 2: Hypotetická struktura huminové kyseliny podle Stevensona (1982) [14]

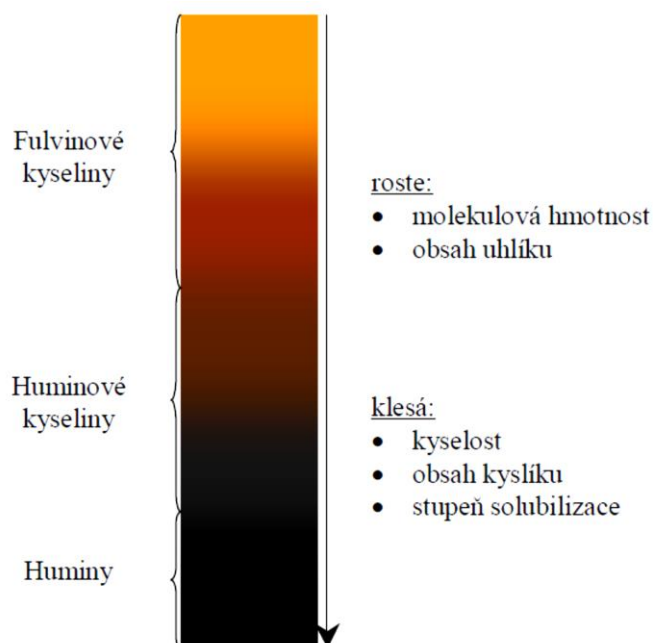
### 3.1.4 Dělení

Huminové látky jsou hlavní a velmi důležitou organickou složkou půdní hmoty, která také zahrnuje organické indentifikovatelné materiály s vysokou molekulovou hmotností, jako například polysacharidy a proteiny. Dále zahrnuje cukry, aminokyseliny a jednodušší látky nebo malé molekuly. [9]

Huminové látky v půdách a sedimentech lze rozdělit do tří hlavních frakcí: huminové kyseliny, fulvokyseliny a huminy. Základní dělení můžeme vidět na obrázku 3.

Huminové kyseliny představují frakci, která není rozpustná v kyselých a neutrálních roztocích. Rozpouští se pouze v alkalickém prostředí, tedy při vyšších hodnotách pH. Můžeme ji tedy získat alkalickým loužením a následným okyselením výluhu.

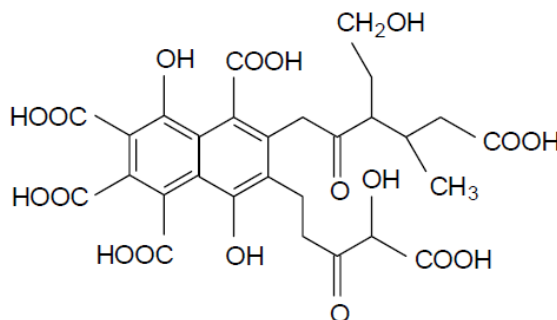
Fulvokyseliny nebo také fulvinové kyseliny jsou na rozdíl od huminových kyselin rozpustné ve vodě v celém rozsahu pH. Zbarvení fulvokyselin je světlé žluté až žlutohnědé.



Obrázek 3: Vlastnosti huminových látek [15]

Huminy se ve vodě nerozpouští, a to ani při kyselém nebo alkalickém pH. Tyto látky mají černou barvu. [3, 13]

Je známo, že fulvinové kyseliny jsou mnohem kyslejší než kyseliny huminové. To je způsobeno vyšším obsahem funkčních skupin kyselé povahy, především karboxylovými kyselinami. Dalším významným rozdílem je výskyt kyslíku ve struktuře. Fulvinové kyseliny obsahují více kyslíku v karboxylových, hydroxylových a ketonových skupinách, zatímco v huminových kyselinách tvoří kyslík strukturní složku pomocí éterových a esterových vazeb. Jedna z možných hypotetických struktur je na obrázku 4. [4, 14]



Obrázek 4: Hypotetická struktura fulvinové kyseliny podle Buffla [14]



Tmavé zbarvení huminových látek je spojováno se složkami s vysokou molekulovou hmotností. Tato teorie by vysvětlovala rozdíl mezi huminovými a fulvinovými kyselinami v molekulové hmotnosti, počtu funkčních skupin a míře polymerace. Obsah různých frakcí v humusu se značně liší podle typu půdy, která byla analyzována. Lesní půdy obecně obsahují mnohem více fulvinových kyselin, zatímco vyšší obsah huminových kyselin obsahuje rašelina nebo luční půda. [9, 13]

Toto všeobecné rozdělení podle rozpustnosti na huminové kyseliny, fulvinové kyseliny a huminy pokrývají hlavní frakce, které jsou dosud používané k popisu huminových látek. Přesto při chemickém popisu nejsou tyto hranice striktně vymezeny. Dosud víme, že huminové kyseliny se vysráží v kyselém prostředí a fulvinové kyseliny jsou rozpustné za všech podmínek. Huminy patří do frakce, která je nerozpustná v celé škále pH. Z toho důvodu se této frakci nedostává tolik pozornosti jako huminovým a fulvinovým kyselinám. Jejich chemické vlastnosti byly zkoumány bez snahy o jakoukoliv další frakcionaci. To způsobilo, že chemické rysy, jako elementární analýza nebo obsah kyselých funkčních skupin, se jevíly konstantní. I přesto, že huminové i fulvinové kyseliny pocházely z různých zdrojů. Přesto se vědci rozhodli k tomuto zjednodušení a uznali huminové frakce, místo směsi složitých nespecifikovaných směsí látek, které můžeme nalézt v různých prostředích. [16]

### **3.1.5 Využití a funkce**

Organická hmota přispívá k růstu rostlin prostřednictvím vlivu fyzikálních, chemických a biologických vlastností půdy. Jako zdroj dusíku a fosforu ovlivňují výživu a růst rostlin. Organická hmota zásadním způsobem působí na biologickou aktivitu mikroflóry i mikrofauny. Fyzikálně-chemická funkce spočívá ve vytváření vhodné struktury, čímž se zlepší provzdušení a zpomalí vysoušení půdy. Dále zvyšuje pufraci a schopnost půdy poutat ionty. Humus také hraje roli v absorpci stopových prvků a má vliv na herbicidy a další zemědělskou chemii. [9]

Na dostupnost živin rostlinami má organická hmota přímý i nepřímý vliv. Díky mineralizaci mikroorganismy slouží jako zdroj N, P, S, ale má také vliv na zásobování živin z jiných zdrojů. U kultivovaných půd klesá mikrobiálním rozkladem obsah humusu po dobu 10 až 30 let, tedy až do rovnovážného stavu, kdy se obsah živin uvolněných mikrobiální činností vyrovná obsahu nově vzniklého humusu. [9]

Intenzivní obdělávání je méně rizikové v půdách s vyšším obsahem humusu. Pokud dojde k poklesu obsahu humusu, mají půdy tendenci se stát těžkými, soudržnými a tvrdými. Humus půdy provzdušňuje, pomáhá zadržovat vodu a činí je mnohem propustnějšími. Komplexní organické sloučeniny, vzniklé syntézou ze snadno rozložitelných organických zbytků, vytváří agregáty. Ty pomáhají udržovat granulární stavy, díky kterým voda lépe prosakuje do půdy a potřebný kyslík je lépe distribuován ke kořenům rostlin. Pokud má půda vyšší vlhkost, je méně ohrožená erozí. Huminové látky jsou významné také kvůli vysoké výměnné a pufrací kapacitě, která pomáhá vyrovnávat pH půdy. [9]

Humus představuje jednu z největších zásob organického uhlíku na Zemi. Přesto jsou průmyslové využití humusu a produktů z něho odvozených vzácné. Zatímco uhlí bylo hojně využíváno a utvářelo především v druhé polovině 19. století a první poloviny 20. století základ chemického průmyslu. Kromě uhlí se jako jeden z hlavních zdrojů uhlíku používala ropa, která je považována za hlavní surovinu pro chemický průmysl 20. století. [14]

Huminové látky za svou poměrně krátkou dobu zkoumání našly své uplatnění jak v tradičním zemědělství, tak v průmyslu, medicíně nebo oblasti životního prostředí. To je způsobeno finanční dostupností a specifickými vlastnostmi huminových látek.

#### **3.1.5.1      *Zemědělství a chov zvířat***

Huminové látky hrají z agronomického pohledu důležitou roli. Vlivy organických zbytků na vlastnosti půdy jsou už tradičně známy díky výraznému vlivu na kvalitu a produktivitu půdy. Kromě zlepšení fyzikálních vlastností půdy a schopnosti zadržovat vlhkost v půdě vykazují vysokou výměnnou kapacitu, která je důležitá pro úrodnost půdy. [14]

V současné době se huminové látky jako hnojiva aplikují v podobě aditiv. Různé soli huminových látek, jako humát vápenatý, se využívají pro zvýšení úrodnosti půdy. Byl prokázán i hnojivý účinek humátu sodného na listy rostlin. Další používanou solí je humát amonný, který má významný růstový stimulující účinek. Aplikacím a charakteristice se nevyhnuly ani huminové látky izolované z různých kompostů. [14]

Humáty jsou často součástí odlišných přípravků pro růst a zdokonalování rostlin. I produktivita půdy se zvyšuje různým způsobem v přítomnosti huminových látek. Jejich nepřímé účinky jsou důležité, neboť integrují železo do chelátů, které je v této formě k dispozici rostlinám. Mimo jiné jejich přidavek do půdy v oblastech chudých na organickou hmotu značně zlepšuje kvalitu půdy. [14]

Kromě půdního zemědělství se huminové kyseliny uchytily i v živočišné produkci. Přesto, že nejsou schváleny jako doplněk krmiv, jsou povoleny jako veterinární léčivo v zemích Evropské unie. Nicméně mnoho zdrojů potvrzuje, že při podávání huminových látek jako výživového doplňku se dostavila podpora růstu. Například bylo prokázáno, že humáty zahrnuté v krmivu a vodě, podpořily růst drůbeže. U brojlerů bylo pozorováno výraznější přibývání váhy v období růstu a došlo k celkovému zvýšení jateční hmotnosti brojlerů a nárůstu břišního tukového polštáře. Koncentrace huminového přípravku byla 2,5 g na kilogram krmiva a největšího účinku bylo dosaženo podáváním krmiva v druhé polovině až finální fázi chovu drůbeže. Navíc se snížily ztráty na drůbeži o 50 % a zvýšení hmotnosti během pěti týdnů byl kolem 30 %. Došlo také ke zvýšení produkce vajec nosnicemi. Podobné účinky, tedy zvýšení tělesné hmotnosti a produktivity mléka, byly prokázány i u krav. Huminové kyseliny stabilizují střevní flóru a tím zvýší využití živin z krmiv. V důsledku zvýšení stravitelnosti krmiv se sníží obsah dusíku ve výkalech, což způsobí i snížení zápachu. [14, 17, 18]

Huminové látky se také hojně využívají v akvaristice ať už ve formě komerčně dostupných humátů nebo přídatkem rašeliny. Voda obohacená o huminové látky a třísloviny simuluje přirozené podmínky, které jsou nezbytné pro chov a odchov ryb z amazonských biotopů. Kromě snížení pH vody v akváriu mají huminové látky vliv i na zdraví ryb. Tlumí stres a působí

pozitivně na pokožku ryb, na které vytváří ochrannou vrstvu odolnou vůči parazitům a jiným druhům onemocnění. Vytváří ideální podmínky pro tření ryb, vývoj jiker a zárodků. Pozitivní jsou i účinky na akvarijní rostliny. Díky huminovým látkám jsou pro rostliny dostupnější živiny a rostliny získávají pevnější a odolnější epidermis. Mimo jiné eliminují zbytky léčiv, aditivních látek na úpravu vody a další akvaristické chemie. [19]

### **3.1.5.2     *Průmysl***

Huminové látky našly využití v mnoha průmyslových odvětvích. V kožedělném průmyslu se huminové látky využívaly k barvení kůží, později sloužily jako činivo k tříslení usní nebo jako přísada k roztoku ve finálních úpravách kůží.

V dřevozpracujícím průmyslu se huminové látky uplatnily k přípravě přírodního indiga, které sloužilo k obarvení dřevěných dýh. Kromě toho se huminové látky zdají být vhodné jako činidla ve vodou ředitelných mořidel na dřevěný nábytek.

Ve stavebnictví se používají v betonu jako přísada pro řízení rychlosti tuhnutí nebo k obarvení pálených tašek. Dále posilují mechanickou pevnost nezpracované keramiky nebo upravují lící vlastnosti keramiky.

Ve výrobě plastických hmot slouží jako barviva. Huminové látky nalezneme také v papírenském průmyslu. Používají se v různých výrobních procesech, jako například u výroby vodivého papíru či papíru s vysokou pevností v tahu. Využívají se taky při recyklaci papíru. [14]

### **3.1.5.3     *Životní prostředí***

S rostoucí spotřebou těžkých kovů, roste jejich koncentrace v povrchových i podzemních přírodních vodách a odpadních vodách, také v půdách či kalech. To má negativní dopad na celé životní prostředí. Huminové kyseliny mohou díky svým vlastnostem tvořit komplexy s mnoha kovy, včetně radionuklidů, a ovlivnit tak migraci těchto mnohdy škodlivých látek životním prostředím. Se zpřísňujícími se kritérii vymezujícími jejich obsah byly hledány i nové technologie uplatnitelné v odpadovém hospodářství. Známé postupy na odstraňování těžkých kovů bývají ve větším měřítku drahé nebo nedostatečně účinné.

Sorpční vlastnosti nízkoeenergetického uhlí jsou dány díky karboxylovým a fenolickým skupinám huminových látek. Dále se ukázalo, že tento sorbent je vhodné kombinovat s chitosanem, kterým je možné stabilizovat vyloužené huminové látky a jejich komplexy s kovy. Byly vyvinuty filtry na bázi huminových látek, které by mohly pomoci s čištěním komunálních a průmyslových odpadních vod. Kromě odstranění barviv, olejů a těžkých kovů, jako je kadmium, rtuť, olovo, nikl či měď, mohou díky svým selektivním vlastnostem odstranit také radioaktivní prvky z vod jaderných elektráren nebo pomoci s likvidací munice a bojových chemických látek.

Látky obsahující humus mohou také sloužit k sorpci plynů. Této schopnosti se využívá při odstraňování odpadních plynů v jatečních závodech a kafileriiích. Nepatrně modifikovaný humát lze použít při odstraňování sulfanu a thiolu z dodávek zemního plynu.

Herbicidy, fungicidy, insekticidy, léčiva a další skupiny sloučenin jsou známy svým negativním dopadem na životní prostředí. I tyto kontaminující sloučeniny však mohou huminové látky díky svým vlastnostem eliminovat z vody, půdy anebo čistírenských kalů. [14, 20]

#### **3.1.5.4 Biomedicínské aplikace**

Huminové látky produkované v komerčním měřítku jsou používány ve veterinární a humánní medicíně. Do dnešní doby bylo publikováno několik studií zaměřených na vliv huminových látek na medicínu. Například bylo potvrzeno, že pokud byly potkanům preventivně podávány huminové kyseliny, výrazně se urychlil proces hojení žaludečních a duodenálních vředů, které byly vyvolány ethanolem. Velký zájem o využití půdního humusového extraktu s komplexy aminokyselin a vitamínu B je především v oblasti kosmetiky a farmaceutiky, a to díky antivirovým, profibrinolytickým, protizánětlivým a estrogenním účinkům, které jsou těmto látkám přisuzovány a představují nové možnosti pro jejich lékařské aplikace. Účinky vodoléčby a balneoterapie jsou spojeny s huminovými látkami obsaženými ve vodě. Pomocí speciální huminové terapie, obsahující především fulvokyseliny, došlo také k potlačení nádorových onemocnění souvisejících s rakovinou tvornými viry. Kromě toho také nemocniční studie prokázaly pozitivní účinek fulvinových kyselin na těžké virové onemocnění dýchacích cest, které je obvyklé především u dětských pacientů. Fulvinové kyseliny užívali v podobě doplňku stravy.

Na druhou stranu huminové kyseliny působí toxicky pro mnoho savčích buněk. To by mohlo být způsobeno redoxními vlastnostmi huminových kyselin, které mohou železité kationty redukovat na kationty železnaté. Tím by došlo k narušení oxidačně-redukční rovnováhy a k vyvolání oxidačního stresu v biologickém systému. [14]

#### **3.1.6 Huminové kyseliny**

Huminové kyseliny představují klíčovou součást neživé přírody, jako je voda, půda nebo sedimenty, kde se vyskytuje v různých koloidních formách a hraje nenahraditelnou roli v životním prostředí. V půdách a sedimentech ovlivňují pórovitost půdy, působí jako sorbenty vody a různých druhů chemických látek. Ve vodním prostředí jsou důležité ve své koloidní formě, sloužící jako nosič rozpuštěných látek. Huminové kyseliny se reprezentují jako slibnou surovinou pro mnoho potencionálních využití. Již nyní se můžeme setkat s aplikacemi v oblasti průmyslu, zemědělství, kosmetiky a medicíny.

Přesná struktura těchto látek je stále neznámá a nelze z jistotou říci, zda se huminové kyseliny vyskytují v makromolekulární formě nebo je supramolekulárního charakteru a vyskytuje se v podobě agregátů. Pravda leží někde uprostřed a ani huminové kyseliny nejsou výjimkou, pravděpodobně se tedy vyskytují v obou formách a je jen otázkou okolních podmínek, kterou upřednostní. Atraktivní jsou zejména díky svým různorodým funkčním skupinám, na které jsou huminové kyseliny bohaté. Obvykle se můžeme setkat s karboxylovými, fenolovými skupinami. Podstatnou část struktury tvoří aromatické kruhy, které spolu s funkčními skupinami tvoří jedinečnou látku s vynikajícími schopnostmi vázat na sebe nejrozličnější rozpuštěné látky chemické povahy.

Je obecně známo, že mobilita nabitých částic v půdách a vodách je ovlivněna interakcemi se záporně nabitými rozpuštěnými nebo vysráženými huminovými kyselinami. Interakce iontů s huminovou kyselinou jsou v podstatě elektrostatického původu ale vzhledem k rozmanitým strukturám a složitosti huminových kyselin nelze přesně předpovědět nebo určit osud iontů v huminových maticích. Existuje řada teoretických postupů pro modelování interakcí, ale chybí standardizovaná experimentální metodika. Nejběžnější experimentální postupy jsou založeny na jednoduchých adsorpčních experimentech. Nicméně tyto metody mají značné nedostatky. [21]

### **3.1.7 Vazebné možnosti huminových kyselin**

Huminové kyseliny mají schopnost interagovat s prakticky všemi minerálními ionty, mikrobiálními povrchy, anorganickými a organickými sloučeninami, které se vyskytují v jejich přirozeném okolí. [4]

Jestliže máme využít schopností huminových kyselin, například v oblasti ochrany životního prostředí, je důležité pochopit a znát možnosti vazebných interakcí těchto látek. Přibližnou představu o tom, jak tyto látky interagují s různými polutanty nebo látkami přirozeně obsaženými v půdě nám mohou pomoci vysvětlit dosud známé informace o struktuře a několik dalších významných vlastností. Díky těmto znalostem můžeme předpokládat několik typů vazeb huminových kyselin například s kontaminanty nebo biogenními prvky. [22]

#### **3.1.7.1 Iontová vazba**

Tento typ vazby vzniká při působení elektrostatických sil mezi fixními náboji, které jsou přítomny ve funkčních skupinách a v iontech vyskytujících se v roztoku. Pokud bereme v úvahu iontovou vazbu u huminových kyselin, můžeme na ně nahlížet jako na ionexy, kterým se připisují vlastnosti srovnatelné se syntetickými ionexy. Vznik elektrostatických sil se dá u huminových kyselin přisuzovat například v případě interakcí s alkalickými kovy nebo amoniaku. [22]

#### **3.1.7.2 Koordináční vazba**

Tento typ vazby je možný mezi makromolekulovými maticemi huminových látek a ionty kovů, které jsou tuto schopné vazbu tvořit. Z pohledu imobilizace těžkých kovů je koordináční vazba jednou z nejdůležitějších. Vznik koordináčních vazeb je možný především díky vysokému zastoupením karboxylových, fenolických a dalších funkčních skupin ve struktuře huminových kyselin. Předpovídání průběhu vzniku komplexotvorných reakcí je vzhledem k složitosti a různorodosti struktury velice obtížné. Tvorba koordináčních vazeb je velice významná při odstraňování těžkých kovů z podzemních nebo odpadních vod. Vzhledem k vytváření komplexů s karboxylovými a fenolickými funkčními skupinami, je vznik koordináční vazby velice závislý na pH. Při slabě kyselém pH se na vzniku koordináčních vazeb podílejí především karboxylové skupiny, pokud pH vzroste nad hodnotu 7, dojde k disociaci protonu z fenolického hydroxylu, který se také může podílet na vzniku komplexu. Obecně tedy platí, že stabilita komplexů huminových kyselin roste se zvyšující se hodnotou pH. Především u iontů, které tvoří silné karboxylát-fenolické komplexy, například  $\text{Cu}^{2+}$ . [22]

### **3.1.7.3 Kovalentní vazba**

Kovalentní vazby mohou vznikat dvěma rozdílnými druhy interakcí. V prvním případě probíhá reakce bez využití aktivity enzymů a v druhém se při reakci, a tedy vzniku kovalentní vazby uplatňuje biokatalýza. To, že v makromolekulové struktuře vznikají kovalentní vazby s kontaminanty a dochází tak k trvalé fixaci, se prokázalo na přelomu 70. a 80. let, kdy byla prokázána vazba antracenu na huminové kyseliny. K tomuto zjištění došlo po analýze huminové kyseliny, která byla izolována z půdy znečištěné polyaromatickými uhlovodíky. To má obrovský význam v ochraně životního prostředí, pokud víme, že polyaromatické uhlovodíky vlivem navázání kovalentní vazbou na strukturu huminových kyselin ztrácí svou mutagenitu. Mimo jiné, dochází k imobilizaci polutantů, což má pro ochranu životního prostředí obrovský význam. Přesto je v této souvislosti důležité zjistit, do jaké míry můžeme takto vzniklou kovalentní vazbu považovat za ireverzibilní. [22]

### **3.1.7.4 Vodíkový můstek**

Na základě dosud přesně neznámé struktury huminové kyseliny je možné předpokládat výskyt vodíkových vazeb. Ve struktuře se mohou vyskytovat také amidové, laktamové nebo nitrilové skupiny. Přesto, že vodíkové vazby mají nízký energetický obsah, mohou se významně podílet na vazbách mezi huminovými kyselinami a polutanty. Vodíkové můstky na huminových kyselinách, jako další možné interakce, byly prokázány u iminoskupin vyskytujících se v molekulách herbicidů. [22]

### **3.1.7.5 Hydrofobní interakce**

Huminové kyseliny se mohou dostat do kontaktu s nepolárními skupinami, které obsahují molekuly nacházející se ve vodném roztoku. Za těchto podmínek může mezi nepolárníma látkama a huminovými kyselinami docházet k hydrofobním interakcím, které mohou vycházet z van der Waalsových sil nebo přesunu  $\pi$ -elektronů. Hydrofobní interakce jsou považovány za nejpravděpodobnější způsob vazby huminových látek s alifatickými a hydrofobními polutanty. Vlivem této interakce může dojít ke snížení toxicity například u insekticidů nebo imobilizace antrazínu a hydroxyantrazínu, který patří mezi syntetické herbicidy. [22]

## **3.2 Gely**

Pod pojmem gel se skrývá trojrozměrná makromolekulární síť o makroskopické velikosti a elastických vlastností. Jeho stavebními kameny mohou být lineární polymery nebo roztok, za předpokladu, že mezi makromolekulami vznikne dostatečný počet spojů, též označovaných jako uzly. Spojité je tedy nejen disperzní prostředí, ale také disperzní podíl. Mohou vznikat dvojím způsobem, a to jak chemickou reakcí, kdy mluvíme o kovalentně síťovaných gelech, nebo druhou možností - vlivem působení mezimolekulárních fyzikálních sil. Takto vzniklé gely označujeme jako fyzikálně síťované. Děj, při kterém gel vzniká, se nazývá gelace.

Dále můžeme gely dělit podle toho, zda obsahují nebo neobsahují rozpouštědlo. Vysušením nebo odstraněním rozpouštědla z gelu dostáváme xerogel, který je kompaktní a má menší objem snížený přibližně o objem odstraněného rozpouštědla. Do původního stavu se xerogel dostane procesem zvaným bobtnání, avšak ne všechny gely jsou schopné této reverzibilní změny. Gel obsahující rozpouštědlo označujeme jako lyogel a dle povahy rozpouštědla ho dále dělíme na hydrogel, který jako rozpouštědlo obsahuje vodu, nebo na organogel obsahující organická rozpouštědla.

Lyogely můžeme rozložit zpátky na roztoky polymerů, pokud nejsou síťovány kovalentní vazbou, v tomto případě je zesíťování nevratné. Ke ztekucení může dojít pouze u fyzikálních gelů, například změnou podmínek, které vyvolaly gelaci. Jednou z těchto podmínek je teplota. Ke gelaci fyzikálními silami dojde ochlazením roztoku. Pokud roztok zahřejeme, lyogel se vrátí na roztok polymerů. Takto chovající se lyogely označujeme jako termoreverzibilní.

Gely při mírném mechanickém napětí reagují elasticky. Tato charakteristická vlastnost gelu se týká také lyogelů s vysokým obsahem rozpouštědla a je zajištěna tím, že jeho vnitřní struktura je propojena makromolekulární sítí. Avšak difuzivita látek o nízké molekulové hmotnosti je v gelu jen nepatrně nižší než v roztoku, z kterého gel vznikl. To je způsobeno tím, že disperzní prostředí se v submikroskopickém měřítku chová jako kapalina. Další vlastností zachovávající si ve formě gelu nebo roztoku je elektrická vodivost. [23]

Gely a jejich proces vzniku má velký význam v lékařství, kdy například v důsledku gelace nastane zvýšení viskozity krve a dojde ke srážení. Organismy rostlin a živočichů jsou z větší části tvořeny gely. Gelace se využívá například při výrobě vláken, lepidel nebo při zpracování kůží. Mnoho farmaceutických přípravků se aplikuje ve formě gelových kapslí, ale běžně se setkáváme také s gelovými mastmi pro vnější užití. Stejně tak i v potravinářství se můžeme setkat s mnoha pochody využívajícími proces gelace a gely samotné. [24]

### **3.2.1 Vznik a dělení**

Proces gelace je složitý a je závislý na mnoha podmínkách. Vliv teploty nebo koncentrace může rozhodnout, zda gel vznikne nebo naopak zůstane polymer v roztoku. Zvýšením teploty dojde ke zvýšení intenzity tepelného pohybu a tím dojde k narušení vazeb mezi makromolekulami. Kromě toho může zvýšená teplota způsobit nevratné chemické změny v soustavě. Snížená teplota naopak většinou gelaci podporuje. Například u bílkovin, ale i u jiných amfoterních polyelektrolytů, má na gelaci významný vliv hodnota pH roztoku. Ideální pH je kolem hodnoty odpovídající izoelektrickému bodu. [24]

Gelaci roztoků makromolekulárních látek podporuje vzrůst koncentrace, kterou docílíme zvýšením počtu srážek makromolekul nebo alespoň jejich částí, čímž zvětší počet vazeb vytvořených v gelu. Záleží ovšem také na tvaru molekul. Při protáhlém tvaru vysokomolekulárních látek dochází ke vzniku gelu i při nízkých koncentracích.

Xerogel se ve styku s kapalinami může chovat odlišně. Na základě této vlastnosti je můžeme dělit na gely reverzibilní a ireverzibilní, neboli elastické a neelastické. Dále gely můžeme dělit na kovalentní gely, které vznikají chemickou reakcí a jsou síťovány vazbami chemického charakteru. Druhou skupinou jsou fyzikálně síťované gely, jejichž uzly vznikají působením van der Waalsových sil, dipolárních sil nebo vodíkových můstků. Kromě toho elastické gely při

vysoušení zmenšují objem za vzniku kompaktního xerogelu. V kontaktu s disperzním prostředím, je xerogel opět schopný toto prostředí přijímat a vrátit se tak do původního lyogelu. Gely ireverzibilní vznikají gelací lyofobních solí. Vyznačují se charakteristickou vlastností, kdy se z xerogelu nejsou schopné vrátit do původního stavu. Xerogel dokáže naadsorbovat jen část disperzního prostředí a ani přeměna neelastického gelu na xerogel není možná. [25]

### **3.2.1.1 Reverzibilní gely**

Reverzibilní gely jsou tvořeny makromolekulami síťovanými fyzikální nebo chemickou vazbou. Podle povahy vazby je dělíme na kovalentní gely a fyzikálně síťované gely. Spoje reverzibilních gelů se nazývají uzly, uzlové oblasti nebo uzlové body. [24]

#### **Kovalentní gely**

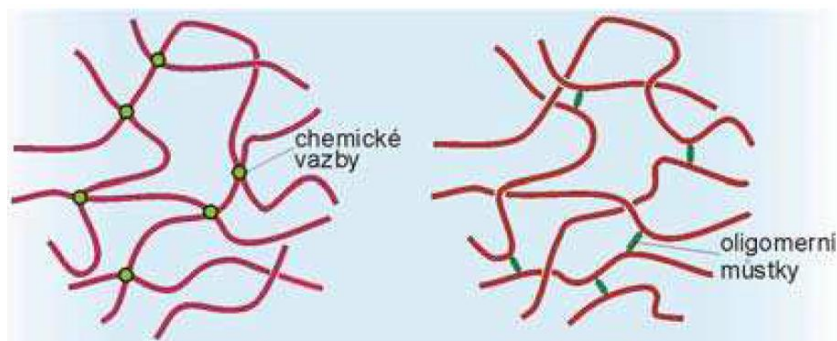
To zda z kovalentně síťovaného gelu vznikne lyogel nebo xerogel závisí na přítomnosti kapalného disperzního prostředí. Vysušením kovalentního lyogelu vzniká xerogel a v kontaktu s rozpouštědlem opět bobtná. Avšak převést jej zpátky na roztok by vyžadovalo narušení chemických vazeb vzniklých pouze při gelaci. To je ovšem nemožné, neboť struktura gelů s chemickými vazbami je velmi pevná. [24]

Kovalentní gely jsou tvořeny chemickými vylencemi, za vzniku makromolekulární trojrozměrné nekonečné síťové struktury. Nekonečná v tom smyslu, že se jedná o obří makromolekulu, s rozměry totožnými makroskopické gelové fázi. Svou velikostí jsou jedinečné mezi běžnými makromolekulami. Síť kovalentních gelů může vznikat dvěma způsoby: síťováním lineárního polymeru nebo síťovací polymerací. Obě možnosti jsou znázorněny na obrázku 5. [23]

Nejnámějším případem síťování lineárního polymeru je vulkanizace kaučuku, kdy dochází ke spojování polysulfidů s polybutadienem sulfidickými můstky. Napřed vznikají rozvětvené makromolekuly, kterým postupně roste hmotnost i stupeň rozvětvení. Největší rozvětvené makromolekuly rostou rychleji, neboť s rozsáhlejší strukturou roste i pravděpodobnost spojení dalšími můstky s velkou makromolekulou. Při dosažení určitého stupně se objeví trojrozměrná nekonečná síť. Tento okamžik se označuje jako bod gelace, kdy se začínají spojovat dosud samostatné rozvětvené makromolekuly.

Kopolymerizaci dvojfunkčního monomeru s vícefunkčním označujeme jako síťovací polymerizace a je to druhý způsob vzniku kovalentních gelů. Například dvojfunkční styren reaguje se čtyřfunkčním divinylbenzenem. Ten se může zapojit do dvou rostoucích řetězců za vzniku uzlů podobným sulfidickému můstku. Obecně tedy platí, že monomer je  $n$ -funkční, pokud se do makromolekuly zapojuje  $n$  vazbami. Vícefunkční monomer zde vystupuje jako síťovací činidlo neboli síťovadlo a pro bod gelace je ho potřeba alespoň v koncentraci řádů desetin procenta. [23]





Obrázek 5: Možnosti síťování kovalentních gelů. [24]

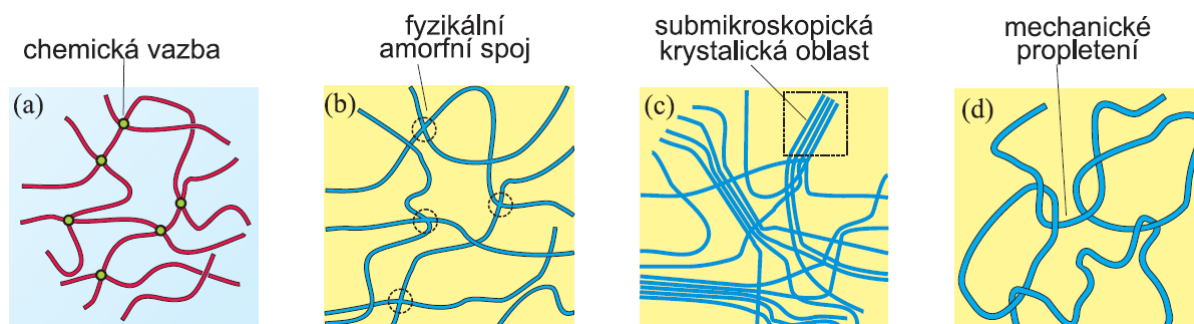
## Fyzikální gely

Gely fyzikálně síťované vznikají z roztoků polymerů pomocí fyzikálních sil. Dochází tak k přitahování makromolekulárních řetězců za vzniku uzlových oblastí, někdy také označovány jako spojné oblasti. Tyto oblasti plní funkci uzlu a jsou mnohem větší než uzly kovalentně síťovaných gelů. Podle délky polymeru se může jedna molekula spojit ve více uzlových oblastech. V úsecích, které nejsou fixovány, si molekula zachovává ohebnost a tepelný pohyb.

Zatímco kovalentní gely můžeme považovat za trvanlivé, spoje fyzikálních gelů mohou v čase zanikat a v jiném uspořádání opět vznikat, například při mechanickém namáhání gelu. Síla vazby a doba životnosti gelu je velice individuální. Silné gely s pevnými spoji mají elastické vlastnosti, stejně jako gely kovalentní. U uzlů slabých gelů je trvanlivost menší, a proto je jejich elastická vlastnost možná jen u malých mechanických napětí.

Mezi uzly fyzikálních gelů můžeme začlenit také zapleteniny, ikdyž nevznikají vlivem fyzikálních sil. Zapleteniny jsou způsobeny tím, že řetězce vlivem svých poloh si navzájem brání v nezávislém pohybu. Systém vykazuje elastické vlastnosti, ale jen krátkodobě. Při delším namáhání se mohou uzly rozplést a nastává relaxace. U pseudogelů dochází k neustálému rozplétání a vytváření nových uzlů. To má za následek pomalé, ale trvalé deformace i malým napětím v závislosti na době relaxace. V nadbytku disperzního prostředí gely přechází na roztok, pokud nejsou zesíťované i kovalentně. V tomto případě se zapleteniny nemohou rozplést a při deformaci působí elasticky. Zapleteniny vykazují stejné vlastnosti jako kovalentní spoje a přispívají k celkovému počtu uzlů. [23]

Jestliže dochází ke spojování polymerů v nepravidelných, náhodných úsecích vznikají gely amorfní. Pokud se části molekul uspořádávají v krátkých úsecích rovnoběžně společně s několika dalšími polymery, dochází v těchto oblastech ke vzniku krystalové mřížky. V těchto gelech se střídají oblasti amorfní s oblastmi krystalické struktury, též označována jako krystalinita. Rozdíly mezi chemickou vazbou a druhy fyzikálních spojů jsou vidět na obrázku 6. [24]

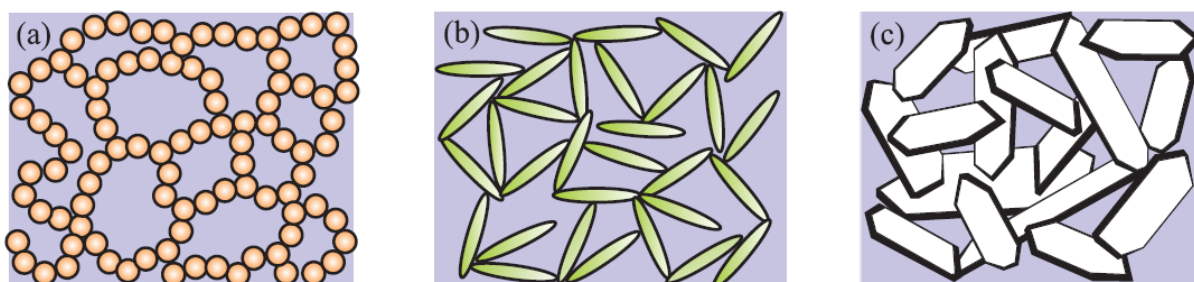


Obrázek 6: Gely vytvořené (a) chemickými vazbami, (b) fyzikálními amorfními spoji, (c) fyzikálními spoji s krystalickými oblastmi, (d) geometrickým síťováním [24]

### 3.2.1.2 Ireverzibilní gely

Pokud z ireverzibilního gelu odstraníme disperzní prostředí, například vysušením, dosáhneme stejného objemu, jaký měl původní lyogel. Ireverzibilní gely mohou poutat ohromné množství kapaliny, ale zachovávají si svůj objem, tzv. neobtnají. Touto schopností je dobře známý silikagel. Ireverzibilní gely znikají gelací lyofobních solů. K té dochází, pokud nastane narušení ochranné vrstvy částic disperzního podílu a následné ztráty stability povrchu. To způsobí, že se částice v těchto místech spojují a vzniká prostorová síť. V mezerách mezi částicemi zůstává uzavřeno disperzní prostředí. Ke gelaci ireverzibilních gelů dojde, pokud koncentrace disperzního podílu dosáhne alespoň minimální hodnoty, při nižších koncentracích je možná pouze koagulace. [25]

Pro tvorbu ireverzibilních gelů je důležitá velikost a tvar částic disperzního podílu. Na rychlost gelace i na vlastnosti vzniklého gelu má značný vliv teplota. Pro vznik gelu jsou ideální menší anizotropní částice s konstantní hmotností. Také míchání nebo jiný způsob mechanického působení může bránit vzniku gelu. Na hranách a hrotech částic, kde právě dochází ke spojování, jsou nejméně rozvinuty elektrické dvojvrstvy nebo solvátové obaly. U částic jehlicového nebo destičkovitého tvaru je dostačující menší koncentrace disperzního podílu a také přechod mezi koagulací a gelem je snazší odlišit. Mechanickým působením může dojít k zabránění vzniku gelu. Pro lepší ilustraci ireverzibilních gelů je struktura ireverzibilních gelů v závislosti na tvaru částic disperzního podílu na obrázku 7. [25]



Obrázek 7: Možné tvary částic ireverzibilních gelů. (a) izometrické částice, (b) jehlicové částice, (c) destičkové částice [25]

### 3.2.2 Vlastnosti a využití

Mechanické vlastností gelů jsou charakteristické pro tuhý stav, přestože disperzní prostředí tvoří kapalina. Gel se chová jako elastická tuhá látka pouze do okamžiku, kdy je schopné odolávat určité hodnotě tečného napětí. Ta souvisí s koncentrací a pevností uzlů v daném gelu. Z toho vyplývá, že kovalentní gel utvářející se z malého počtu uzlů pevných chemických vazeb, vydrží mnohem větší napětí a jsou proto více elastické. Nicméně vysoká koncentrace uzlů nebo uzlových oblastí mezi řetězci makromolekul snižuje možnost změny tvaru polymeru, a tím omezuje elastické vlastnosti gelu. Některé gely s velice slabými vazbami vykazují charakteristickou vlastnost zvanou tixotropie. Tixotropní gely mohou být převedeny na roztok mechanickým napětím, například protřepáním. Po ukončení mechanického napětí se roztok opět vrátí do gelového stavu s původními vlastnostmi. Tento jev mohou vykazovat především fyzikální gely, ať už reverzibilní či ireverzibilní. Základní podmínkou je to, že uzly v gelu musí mít stejnou pevnost.

V případě, že připravíme gel želatiny na skleněné destičce, bude se smršťovat vysoušením pouze ve směru tloušťky filmu gelu. To je způsobeno orientací makromolekul v gelu, které směřují rovnoběžně se skleněnou destičkou. Tento jev se nazývá anizotropie a je způsoben podmínkami při gelaci. Gely vykazující anizotropii mají vlastnosti, mezi které patří změna lineárních rozměrů při bobtnání, lom, pohlcování světla, dvojlom i mechanické vlastnosti odlišné v různých směrech. [25]

Jelikož disperzní podíl vytváří trojrozměrnou síť, kterou vyplňuje disperzní prostředí kapalného charakteru, mohou se malé molekuly a ionty pohybovat v prostorech mezi síťovým disperzním podílem. Rychlost částic v gelu je téměř stejná jako v odpovídajícím roztoku. S tím souvisí difuzivita malých molekul, která není ovlivněna prouděním ani tepelnou konvekcí. Z důvodu těchto unikátních vlastností se gely využívají při difúzních experimentech. Také elektrická vodivost roztoku a gelu s disperzním prostředím tvořeným nízkomolekulárními disociovanými elektrolyty je téměř stejná. [24]

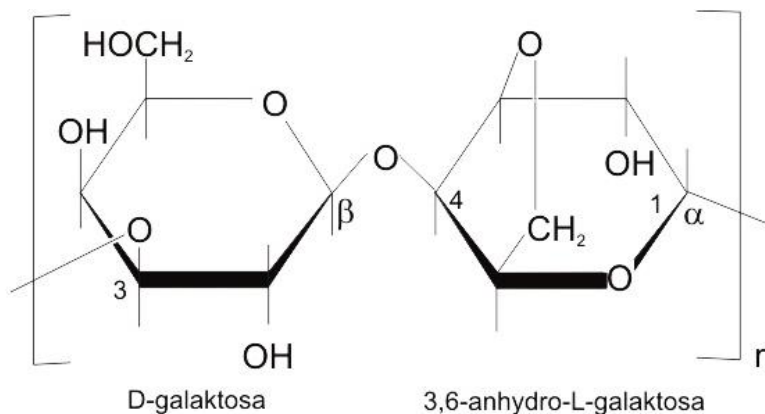
Nově vzniklé gely doprovází mnoho samovolných jevů způsobených termodynamickou nerovnováhou. Při stárnutí gelů dochází ke zvyšování počtu styčných bodů. To má za následek smršťování síťovité struktury a celého gelu. Dále dochází k vytlačování disperzního prostředí z gelu, které označujeme jako synereze. Ta je usnadňována zvýšením teploty nebo i přidáním elektrolytu. [25]

V rámci medicíny se gely začaly využívat jako scaffoldy, mají tedy funkci jakéhosi lešení, které poskytuje tkáním oporu, a ty mohou tímto gelem prorůst. S dobou, jak tkáň scaffoldem prorůstá, se gel postupně degraduje. Uplatnění je hlavně v tkáňovém inženýrství, kdy aplikací scaffoldu můžeme regenerovat nebo nahradit poškozené tkáně, jako například chrupavky. Dále se gely v medicíně využívají například jako nosiče léčiv s řízeným uvolňováním. A to především léčiv, které je nutno uvolňovat postupně po menších dávkách a plynule po delší dobu. Dobu uvolňování lze řídit druhem polymeru a hustotou zesíťování. Základní podmínkou pro tyto aplikace je, že gel musí být biodegradabilní a zároveň biostabilní, kterou splňují především biopolymery. [26]

Gely se hojně využívají také v chemii. Slouží jako adsorbenty pro purifikaci biomakromolekul. Zde se můžeme setkat se silikagelem, oxidem hlinitým nebo fosforečnanem vápenatým ve formě gelu. Podobný efekt se využívá také u gelové permeační chromatografie. Molekuly se separují podle velikosti a tvaru. Je možné separovat jakékoliv molekuly, které se liší svými rozměry a jsou dobře rozpustné v některém z rozpouštědel. Gelové chromatografie se využívá hlavně v analýze makromolekulárních látek a v biochemii. Specifických separačních požadavků lze dosáhnout správnou volbou gelu. Typickými představiteli jsou dextranové gely, polyakryamidové gely, silikagely nebo agarosové gely. Další analytickou metodou, při které se využívá gel, je elektroforéza. Při této metodě se využívají především polyakrylamidové gely, škrobové gely nebo agarosové gely. [27]

### 3.2.3 Hydrogely na bázi huminových látek

Agarosa je purifikovaný lineární galaktan izolovaný z agaru nebo z mořských řas obsahující agar. Většinou se jedná o mořské červené řasy rodu *Rhodophyta*. Strukturálně se jedná o polysacharid složený ze střídajících se jednotek D-galaktosy a 3,6-anhydro-L-galaktosy. Ty spolu vytvářejí disacharid označovaný jako agarobiosa. Přesná struktura je zobrazena na obrázku 8. Agarosa je termoreverzibilní gel, jehož síť tvoří tlusté svazky agarosových řetězců spojující vodíkové můstky. Díky nim vznikají velké póry schopné udržet velké množství disperzního prostředí. Její strukturu tvoří šroubovice s trojnásobně zalomenou osou. Agarosa není toxická a její příprava je snadná. Vzniklé gely jsou stabilní s dobou uchovávání až jeden rok. Jelikož je agarosa přírodní látka, mohou se jednotlivé produkty výrobců nebo i různé šarže lišit ve svých vlastnostech. To může způsobit odlišné výsledky v prováděných experimentech. [28, 29]



Obrázek 8: Vzorec agarosy [28]

Huminové hydrogely mají za úkol rozumně modelovat přírodní prostředí. Pevné částice huminových látek v hydrogelu mají být homogenně distribuovány, částečně rozpuštěny a částečně vysoce nabobtnalé. Bohužel nejsou známy interakce huminové látky a hydrogelu, protože tyto základní vlastnosti gelu, jako vnitřní pH nebo relativní obsah huminové kyseliny v gelu, je obtížné řídit. Agarosa je používána jako nosný polymer huminových kyselin. Při vyšších teplotách je síť agarosových řetězců vstřebávána molekulami huminových kyselin. K tomu dochází při teplotách vyšších jak 60 °C. Směs při ochlazení na normální teplotu (20 °C) přejde do gelového stavu. [30]

### 3.3 Difúze

Difúzi můžeme pozorovat při vyrovnávání koncentrace analytických a koloidních disperzí. Při difúzi dochází k pronikání částic z míst o vyšší koncentraci do míst o nižší koncentraci. Difúze složky ve směsi je její relativní pohyb vzhledem k dané směsi a je zapříčiněn především nerovnoměrným rozložením chemických potenciálu v různých místech směsi. Difúze probíhá do vyrovnání termodynamické rovnováhy v soustavě. [31]

#### 3.3.1 Popis děje

Difúze je děj, který nastává v důsledku translačního pohybu částic. V soustavách s koncentračním gradientem dochází k samovolnému vyrovnávání koncentrací. Rychlost difúze lze vyjádřit difúzním tokem  $J_i^{dif}$ , který je definovaný jako látkové množství difundující látky  $i$ , která za časovou jednotku projde jednotkovou plochou kolmou na směr difúze. Pro difúzní tok ve stacionární fázi platí tento vztah:

$$J_i^{dif} = u_i^{dif} \cdot c_i, \quad (1)$$

kde  $u_i^{dif}$  je střední rychlost toku částic a  $c_i$  je koncentrace částic. [23]

#### 3.3.2 Fickovy zákony a známá řešení

Tepelný pohyb disperzních částic je v nepřítomnosti silového pole izotropní, to znamená, že všechny směry pohybu jsou stejně pravděpodobné. Avšak difúze je anizotropní. Můžeme na ni nahlížet jako na tok vyvolaný silovým polem termodynamického původu a souvisí s nerovnoměrným prostorovým rozložením disperzních částic. Při jednorozměrné stacionární difúzi je difúzní tok úměrný koncentračnímu gradientu, který je hybnou silou difúze. Vztah mezi intenzitou difúzního toku a koncentračním spádem popisuje první Fickův zákon: [23]

$$J_i^{dif} = -D_i \cdot \frac{d c_i}{d x}, \quad (2)$$

kde  $x$  je prostorová souřadnice ve směru koncentračního spádu a  $D_i$  je difúzní koeficient nebo též koeficient úměrnosti. Při jednotkovém koncentračním gradientu je difúzní koeficient číselně roven látkovému množství difundující látky  $i$ , která projde jednotkovou plochou za jednotku času. Tato veličina je závislá na teplotě a se zvyšující se teplotou roste. To je zapříčiněno poklesem viskozity kapalného prostředí a také tím, že difúze je důsledkem tepelného pohybu. Jestliže známe Einsteinovu rovnici pro difúzní koeficient, můžeme si to dokázat tímto vyjádřením:

$$D_i = \frac{kT}{f_i}, \quad (3)$$

kde  $f_i$  je frikční koeficient, respektive koeficient tření, a popisuje odpor prostředí proti pohybu částice,  $k$  je Boltzmanova konstanta a  $T$  je teplota prostředí. Dále víme, že pro kulovité částice je frikční koeficient  $f_i$  dán vztahem:

$$f_i = 6\pi \cdot \eta_0 \cdot r_i \left( \frac{2\eta_0 + r_i \cdot \beta}{3\eta_0 + r_i \cdot \beta} \right), \quad (4)$$

kde  $\eta_0$  je viskozita prostředí,  $r_i$  je poloměr kulovité částice a  $\beta$  je koeficient skluzového tření. Jsou-li kulovité částice tak velké, že rozpouštědlo můžeme považovat za model, v němž reálné prostředí můžeme nahradit idealizovaným spojitým prostředím, je koeficient skluzového tření  $\beta$  velký a pro frikční koeficient tedy platí Stokesova rovnice:

$$f_i = 6\pi \cdot \eta_0 \cdot r_i. \quad (5)$$

Po dosazení do Stokesovy rovnice do Einsteinovy rovnice dostaneme toto vyjádření:

$$D_i = \frac{kT}{6\pi \cdot \eta_0 \cdot r_i}. \quad (6)$$

Tento vztah platí pro difúzi velkých kulovitých částic ve zředěných disperzích s kapalným disperzním prostředím, které se jeví jako kontinuum. [23, 24]

**Druhý Fickův zákon** popisuje nestacionární difúzi, při které se koncentrační gradient s časem mění a difúzní tok se mění s polohou. Probíhá-li difúze v objemovém elementu trubice, k vyjádření druhého Fickova zákona dojdeme následovně:

V objemu  $V$  narostla koncentrace za čas  $dt$ , to znamená, že přibýlo  $dn$  látky  $i$ .

$$V = S \cdot \Delta x, \quad (7)$$

$$dn = (J_i^{dif} - J_i'^{dif}) \cdot S \cdot dt, \quad (8)$$

dále platí, že

$$dc_i = \frac{dn}{V} = \frac{dn}{S \cdot \Delta x} \Rightarrow \frac{dc}{dt} = \frac{(J_i^{dif} - J_i'^{dif}) \cdot S}{S \cdot \Delta x} = \frac{-\Delta J}{\Delta x}, \quad (9)$$

$$\frac{dc}{dt} = -\frac{\Delta J}{\Delta x} = -\frac{dJ_i^{dif}}{dx} = -\frac{d\left(-D_i \cdot \frac{dc_i}{dx}\right)}{dx}. \quad (10)$$

Po upravení vztahu dostáváme **druhý Fickův zákon** ve tvaru:

$$\frac{dc_i}{dt} = D_i \cdot \frac{d^2 c_i}{dx^2}. \quad (11)$$

[23, 24]

### 3.3.3 Další případy difúze

Pokud látka difunduje skrz rovinnou desku, jedná se o ustálenou difúzi a lze ji řešit podle prvního Fickova zákona. Tomu odpovídá rovinná deska nebo membrána o tloušťce  $l$ , jejíž povrch má souřadnice  $x = 0$  a  $x = l$  a je udržovaný na konstantní koncentraci  $c_1$  a  $c_2$ . Za předpokladu, že difúzní koeficient je nezávislý na koncentraci, ustaví se po určité době v membráně lineární rozdělení koncentrace, protože difúzní tok všemi paralelními rovinami je stejný. Pak platí rovnice 12 a zároveň také rovnice 13. Koncentrační gradient v prvním Fickově zákoně je konstantou. [32]

$$\frac{dc}{dt_1} = 0, \quad (12)$$

$$\frac{d^2c}{dx^2} = 0, \quad (13)$$

$$\frac{dc}{dx} = \text{konst.} = -\frac{c_1 - c_2}{l}. \quad (14)$$

Pro difúzní tok pak platí:

$$J = -D \frac{dc}{dx} = D \frac{c_1 - c_2}{l}. \quad (15)$$

Difúzní koeficient se mění s koncentrací a hodnota difúzního koeficientu získána z experimentálních hodnot ustáleného toku membránou je střední hodnotou pro dané rozmezí koncentrací. Pro rychlost převodu difundující látky za ustáleného stavu platí rovnice 16.

$$J = -D \frac{dc}{dx} = \text{konst.} \quad (16)$$

V případech neustálené difúze se jedná o řešení druhého Fickova zákona s různými okrajovými podmínkami a pro různé symetrie. Jde o případy, kdy se rozdělení koncentrace mění s časem. [32, 33]

### 3.3.3.1 Metoda nekonečného difúzního páru

Metoda nekonečného difúzního páru je realizována v případě, kdy máme sloupec vody spočívající na sloupci roztoku. Jiným případem difúzního páru mohou být dvě spojené skleněné tyče o odlišném složení. Řešením této metody je rovnice 17.

$$c(x, t) = \frac{1}{2} c_0 \operatorname{erfc} \frac{x}{2\sqrt{Dt}}. \quad (17)$$

Difúzní koeficient  $D$  získáme, pokud známe koncentraci  $c$  v místě  $x$  a čase  $t$ . Známe také původní koncentraci roztoku  $c_0$ . Při větším počtu údajů lze veličinu  $z$  (viz rovnice 18) vynést do grafu proti proměnné  $x$  a dostaneme přímku se směrnicí z rovnice 19 a difúzní koeficient pak můžeme vypočítat ze vztahu 20. [32, 33]

$$z = \frac{x}{2\sqrt{Dt}}, \quad (18)$$

$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{1}{2\sqrt{Dt}}, \quad (19)$$

$$D = \frac{1}{4t \cdot \operatorname{tg}^2 \alpha}. \quad (20)$$

### 3.3.3.2 Metoda okamžitého plošného zdroje

O okamžitý plošný zdroj jde tehdy, pokud nanášíme malé množství difundující látky v podobě tenkého filmu na rovinný povrch prostředí, do kterého bude látka difundovat. Difúzní prostředí musí být vždy větší ve směru difúze než difúzní dráha, hovoříme o nekonečném rozměru. Okamžitý plošný zdroj realizujeme například nanesením zředěného roztoku  $\text{AgNO}_3$  na čelní plochu dostatečně dlouhé skleněné tyčinky jako difúzního prostředí. Rozdělení koncentrace je po určitém čase difúze dáno vztahem:

$$c = \frac{m}{\sqrt{\pi Dt}} \exp\left(-\frac{x^2}{4Dt}\right). \quad (21)$$

Pro případ, že difundující látka byla umístěna mezi dvě difúzní prostředí a difúze probíhá symetricky v obou směrech, lze použít vztah:

$$c = \frac{m}{2\sqrt{\pi Dt}} \exp\left(-\frac{x^2}{4Dt}\right). \quad (22)$$

Veličina označená jako  $m$  vyjadřuje množství látky v čase a poloze rovným nule, tedy na začátku difúze a rozhraní difundující látky a difúzního prostředí. Difúzní koeficient v tomto případě můžeme zjistit například obrušováním vrstev difúzního prostředí a následnou analýzou jednotlivých vrstev. Zlogaritmováním vztahu 21 dostaneme

$$\ln c = \ln \frac{m}{\sqrt{\pi Dt}} - \frac{x^2}{4Dt}. \quad (23)$$

Po vynesení logaritmu koncentrace v závislosti na druhé mocnině polohy dostaneme přímku se směrnici 24 a pro difúzní koeficient získáme závislost 25. [32, 33]

$$\text{tg}(\alpha) = \frac{1}{4Dt}, \quad (24)$$

$$D = \frac{1}{4 \cdot t \cdot \text{tg}(\alpha)}. \quad (25)$$

### 3.3.3.3 Metoda konstantního zdroje

Zdroj, tedy difundující látka, je ve vysoké koncentraci, velkém objemu a koncentrace  $c_0$  se nemění. Zdroj proniká do nekonečného difúzního prostředí, tedy se předpokládá, že v průběhu celého experimentu difundující látka nedosáhne konce difúzního média. V reálném životě se s tímto modelem setkáváme při řešení technických úloh, jako je například rozpouštění pevných látek ve viskózních taveninách



Řešení druhého Fickova zákona pro tento případ je v rovnici 26 a celkové množství látky, které projde za daný čas rozhraním o jednotkové ploše, vyjadřuje vztah 27. [32, 33]

$$c = c_0 \operatorname{erfc} \frac{x}{2\sqrt{Dt}}, \quad (26)$$

$$m_t = 2c_0 \sqrt{\frac{Dt}{\pi}}. \quad (27)$$

### 3.3.3.4 Difúze v rovinné desce

Difúzi v rovinné desce uplatníme v případě, že difundující látka je soustředěna v oblasti tvaru desky o tloušťce  $2l$ , kde  $(-l < x < l)$ . Počáteční koncentrace difundující látky je  $c_0$ , zatímco koncentrace v okolním roztoku je nulová. Difúze probíhá do nekonečného média a platí zde vztah:

$$c = \frac{1}{2} c_0 \left[ \operatorname{erf} \frac{l-x}{2\sqrt{Dt}} + \operatorname{erf} \frac{l+x}{2\sqrt{Dt}} \right]. \quad (28)$$

Tento výraz 28 platí také pro koncentrace v polonekonečném systému skládající se z vrstvy roztoku o konečné tloušťce  $l$ , která je převrstvená dlouhým sloupcem rozpouštědla. [32, 33]

## 3.4 Současný stav řešené problematiky

### 3.4.1 Difuzivita měďnatých iontů v huminovém gelu

Tato práce je zaměřena na transport a mobilitu měďnatých iontů v huminovém hydrogelu. Bylo použito několik druhu huminových kyselin, které byly izolované z různých zdrojů. Připravené huminové gely obsahovaly různou koncentraci funkčních skupin a lišily se tedy i v afinitě k těžkým kovům. Změna koncentrace byla způsobena methylací karboxylových skupin ve struktuře huminových kyselin. Difúzní experiment probíhal ve skleněné trubici o průměru 1 cm a délce 3 cm. Trubice byla vyplněna huminovým hydrogelem a na ústí trubice byl přiložen filtrační papír o poloměru 1 cm, který byl předtím namočený na jednu minutu v  $\text{CuCl}_2$  o koncentraci 1 M. Po 5, 24 a 48 hodinách byl hydrogel nakrájený na 2 – 4 mm široké plátky a měďnaté ionty byly izolovány v HCl. Dále byla sledována síla vazby mezi měďnatými ionty a huminovým gelem. Kdy byla krychle hydrogelu o rozměrech 1 cm ponořena do roztoku  $\text{CuCl}_2$  o koncentraci 0,1 M na jeden týden. Poté byla krychle hydrogelu rozpůlena a z každé poloviny byly měďnaté ionty extrahovány v jiném prostředí. Volné nevázané ionty byly extrahovány pomocí vody. Iontově výměnná frakce byla vytěsněna jednomolární  $\text{MgCl}_2$ . Silně vázané měďnaté ionty byly vyextrahovány pomocí HCl o koncentraci 1 M. Zbytkové ionty byly extrahovány  $\text{NH}_4\text{-EDTA}$  o koncentraci 0,025 M. Výsledky prokázaly, že mobilita měďnatých iontů je silně ovlivněna reaktivitou huminových gelů, které silně závisí na obsahu a disociaci kyselých funkčních skupin, především karboxylových. Selektivní methylací karboxylových skupin mělo velký vliv na mobilitu měďnatých iontů. Na dynamické rovnováze difúzního procesu se podílí zejména měďnaté ionty z iontově vyměnitelné frakce. Měďnaté ionty tvoří silné komplexy s huminovým gelem jen velmi pomalu. [34]

### 3.4.2 Sorpce $\text{Cu}^{2+}$ iontů na huminové kyseliny izolované ze sedimentu

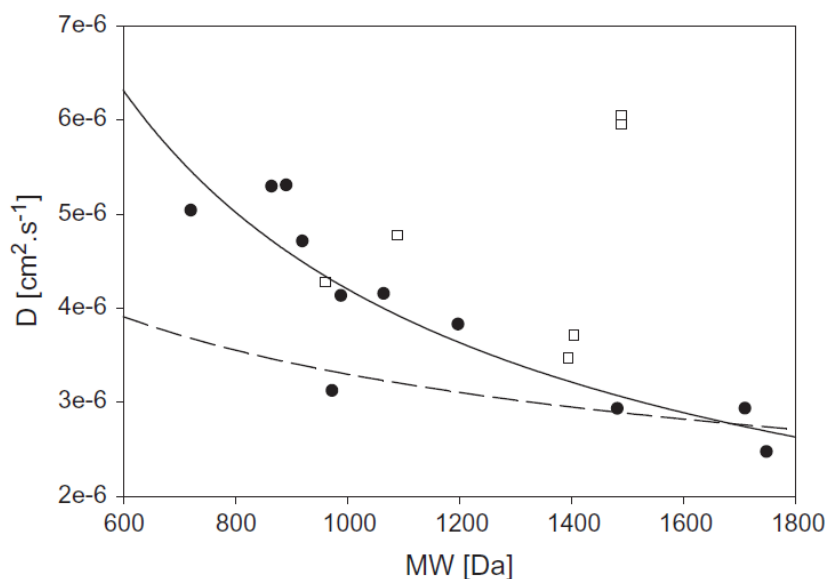
Huminové kyseliny se ve svém chemickém složení, funkčních skupinách a strukturech mohou lišit na základě odlišných zdrojů, ze kterých byly izolovány. K tomuto jevu však může dojít i v případě, že byly izolovány z jednoho zdroje. To má také velký význam v sorpci těžkých kovů, neboť huminové kyseliny jsou klíčovou složkou procesu ovládající přenos, transformaci a další osud těžkých kovů v životním prostředí. V této práci se účastníkům experimentu povedlo extrahovat čtyři frakce huminových kyselin z jednoho sedimentu, na nichž byly provedeny sorpční experimenty měďnatých kationtů. Pozorované způsoby sorpce měďnatých kationtů na huminové kyseliny byly iontově výměnné a povrchově vázané, přičemž iontově výměnná frakce měla větší sorpční schopnost ale zároveň nižší afinitu v porovnání s povrchově vázanou frakcí. [35]

### 3.4.3 Difúzní charakteristika agarosového hydrogelu

Agarosové hydrogely se hojně využívají jako difúzní vrstvy pro měření difúzních gradientů v tenkém filmu. Metoda je označována jako DGT (diffusive gradients in thin films technique). Účelem práce bylo prozkoumat detailněji a charakterizovat difúzi v agarosovém gelu. V této práci bylo prozkoumáno 8 kationtů a 8 aniontů metodou DGT. Agarosový gel byl skladován po dobu 300 dní při podmínkách: pH 2–11, iontová síla 0–0,1 M a teplota 4–40 °C. Během skladování nedošlo ke změně tloušťky agarosového filmu, což je klíčová hodnota pro měření metodou DGT. Příjem kationtů a odpuzování aniontů bylo pozorováno v gelu o iontové síle menší než 2–3 mM a při menší koncentraci  $\text{NaNO}_3$  než 1 mM. To bylo přičítáno elektrostatickým interakcím iontů s fixovanými záporně nabitými skupinami v gelu. Typický hydrogel pro využití DGT techniky je polyakrylamid zesíťovaný s agarosou. Difúzní koeficient samotného agarosového gelu s PVDF membránou byl 1,10krát větší, než směs agarosu s polyakrylamidem. Použití agarosového gelu samotného nebo spolu s různými filtračními membránami mělo vliv na celkovou míru difúze kationtů a aniontů. Naměřené koncentrace DGT kationtů a aniontů v přefiltrovaných přírodních sladkých i slaných vodách se shodují s hodnotami, které byly naměřeny běžně používanými gely. Výsledky prokázaly, že agarosa může být použita jako standardní difúzní vrstva DGT pro široký rozsah anorganických a organických analytů. [36]

### 3.4.4 Vliv molekulové hmotnosti huminových látek na difúzní koeficient

Tato studie se zabývá difúzí huminových látek a rozpuštěné organické hmoty v hydrogelu. Jako difúzní gel byl použit acrylamidový monomer s agarosovým derivátem. Všechny experimenty byly prováděny s gelem o tloušťce 0,8 mm, tedy nejčastěji využívanou pro DGT měření. Difúzní experiment byl prováděn v akrylátových difúzních celách, přičemž propojovací otvor mezi celami byl 1,2 cm. Rozpuštěná organická hmota se během experimentu šířila za stálého míchání z jedné cely, skrz hydrogel, do cely druhé. Objem příjmové cely byl 1200 cm<sup>3</sup> a 550 cm<sup>3</sup> činil objem cely zdrojové. Rozpuštěná organická hmota byla izolována z různých zdrojů, zatímco huminové látky byly zakoupeny od organizace IHSS.



Obrázek 9: Grafické znázornění výsledků práce. Závislost difúzního koeficientu na molekulové hmotnosti. Čtverce znázorňují huminové látky a kruhy přírodní rozpuštěnou organickou hmotu.

Na obrázku 9 můžeme vidět závislost mezi difúzním koeficientem a molekulovou hmotností huminových látek a přírodní organické rozpuštěné hmoty. Z obrázku je patrné, že s rostoucí molekulovou hmotností klesá difúzní koeficient. Zatímco plná čára vyobrazuje navrhovaný model, přerušovaná čára znázorňuje model podle Buffla. Pouze vzorky huminových kyselin nordic aquatic s molekulovou hmotností 1394 Da a 1405 Da nezapadají do uvedených závislostí. To může být způsobenou výrobním procesem vzorku. Nicméně bylo zjištěno, že difúzní koeficient menších částic (pod 950 Da) je o 30 % větší než předpokládala závislost podle Buffla. V rozmezí velikosti částic přírodní rozpuštěné organické hmoty od 500 do 1750 Da je navrhovaná regrese vhodná pro stanovení hodnot difúzního koeficientu. Molekulová hmotnost rozpuštěné organické hmoty se průchodem skrz gel nezměnila. [37]

### 3.4.5 Vliv karboxylových skupin huminových kyselin na vazbu organických sloučenin

V této práci byla sledována sorpce dvou kladně nabitých barviv. Methylenová modř a rhodamin 6G byly studovány sorpčními a difúzními experimenty. Pozorování funkce karboxylových skupin byly provedeny na neupravené huminové kyselině a methylované huminové kyselině se selektivně methylovanými huminovými kyselinami. Výsledky ukazují, že interakce rozpuštěných látek s huminovými kyselinami mají silný vliv na rychlost difúze. Stejný jev byl pozorovaný u methylované i nepozměněné huminové kyseliny. Sorpční experimenty prokázaly zlepšení sorpční kapacity methylované huminové kyseliny, což je vysvětleno alkylací karboxylových skupin huminové látky. Difúzní experimenty ve srovnání se sorpčními vykazují mnohem lepší simulaci přirozeného prostředí huminových kyselin. V první části byla difúze rhodaminu 6G a methylenové modři skrz agarosu nebo huminový hydrogel pozorována v difúzních celách. V druhém případě byla provedena difúze v nestacionární fázi, kdy byla kyveta s gelem ponořena do 250 cm<sup>3</sup> vodného roztoku barviva. V posledním difúzním experimentu (označovaným jako equilibrium partitioning experiments) byla skleněná trubice naplněná gelem a ponořena do roztoku barviva na 7 dnů. Poté byla vložena na 7 dnů do destilované vody a nakonec do jednomolárního roztoku HCl na 7 dnů.

Množství uvolněného barviva bylo sledováno spektrofotometricky. Adsorbční experiment byl proveden vsádkově, kdy bylo 50 mg huminové kyseliny smícháno s 50 cm<sup>3</sup> barviva za stálého míchání na 72 hodin. Množství adsorbovaného barviva bylo zjištěno UV–VIS spektrometrií. Difúzní a adsorpční experimenty ukázaly, že mohou přiblížit a objasnit chování rozpuštěných látek v prostředí huminových kyselin. Interakce mezi huminovými kyselinami a rozpuštěnými barvivy silně ovlivňuje rychlost difúze. Navíc bylo prokázáno, že karboxylové kyseliny se nepodílejí na interakcích takovou mírou, jakou se očekávalo. Větší intenzitou, než elektrostatické interakce mezi opačně nabitými sloučeninami, by mohly vazbu huminových kyselin s barvivy ovlivňovat působení aromatických skupin ve struktuře obou studovaných látek. [38]

## 4 PRAKTICKÁ ČÁST

### 4.1 Použité přístroje a vybavení

- UV–VIS spektrofotometr (Varian Cary 50),
- FTIR spektrofotometr (Nicolet is50),
- pH metr (Mettler Toledo, SevenMulti),
- vícemístná míchačka (Thermo Scientific, Variomag POLY),
- váhy (Scaltec SPB 42),
- váhy analytické (Scaltec SBC 31),
- elektrický vařič (ETA),
- digitální teploměr (Greisinger electronic, GMH 175),
- plastové kyvety,
- míchadla,
- skleněná nádoba s víkem ( $10,5 \times 10,5 \times 5$  cm).

### 4.2 Použité chemikálie

- dihydrát chloridu měďnatého, p.a., Lach-ner s.r.o.,
- heptahydrát chloridu nikelnatého, p.a., Sigma Aldrich ,
- hydroxid sodný, p.a., Penta Praha,
- kyselina chlorovodíková, normanal, Lach-ner s.r.o.,
- bromid draselný, p.a., Sigma Aldrich ,
- agarosa, Sigma Aldrich,
- huminové kyseliny, IHSS,
- destilovaná voda.

### 4.3 Příprava roztoku huminové kyseliny

K přípravě roztoku huminové kyseliny bylo zapotřebí přichystat roztok NaOH o koncentraci  $0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Byly naváženo přesně 2 g NaOH, které byly rozpuštěné v odměrné baňce o objemu  $100 \text{ cm}^3$ . Dále bylo zapotřebí roztoku HCl o koncentraci  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Do odměrné baňky o objemu  $100 \text{ cm}^3$  bylo odpipetováno  $8,8 \text{ cm}^3$  35% HCl. Odměrná baňka byla doplněna po rysku destilovanou vodou a promíchána.

Na přípravu roztoků byly použity standardní vzorky huminových kyselin organizace IHSS. Jednalo se o Leonardite, Elliott Soil, Suwannee River a Nordic Lake. Použito bylo 0,1 g sypké izolované huminové kyseliny, která byla rozpuštěna v NaOH o objemu  $50 \text{ cm}^3$ . Roztok byl umístěný na míchačku při 250 otáčkách za minutu po dobu 24 hodin. Po dokonalém rozpuštění byl obsah odměrné baňky přemístěn do kádinky a zneutralizován kyselinou chlorovodíkovou o koncentraci  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Hodnota pH se pohybovala v rozmezí  $7 \pm 0,2$ . Neutralizace byla prováděna v pomalých krocích, protože hodnota pH v neutrální oblasti měla strmý pokles s každým přidavkem HCl. Zneutralizovaný roztok huminové kyseliny byl převeden do odměrné baňky o objemu  $100 \text{ cm}^3$  a doplněn destilovanou vodou po rysku. Výsledný roztok měl koncentraci  $1 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

#### 4.1 Příprava difúzních roztoků

Na přípravu difúzních roztoků byl použit  $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ . Pro tuto práci bylo zapotřebí roztoků měďnatých kationtů o koncentraci 0,1; 0,5 a 1  $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Proto bylo potřeba na přípravu těchto tří roztoků o objemu 200  $\text{cm}^3$  navážit 3,41; 17,05 a 34,10 g  $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ .

#### 4.2 Příprava agarosových hydrogelů

V této práci byly použity dva typy gelů. Čistý agarosový gel sloužil především jako referenční a neobsahoval huminové látky. V druhém případě byl využíván agarosový gel s obsahem huminových látek 0,01 hm. %. Oba gely tvořila agarosa o obsahu 1 hm. %.

Příprava agarosového gelu probíhala následovně. Na váženku bylo odváženo 0,1 g agarosy, která byla dále přemístěna do kádinky spolu s 10  $\text{cm}^3$  destilované vody. V případě huminového hydrogelu bylo k 0,1 g agarosy přidáno 9  $\text{cm}^3$  destilované vody a 1  $\text{cm}^3$  roztoku huminových kyselin. Obsah kádinky byl zahříván na vařiči k teplotě 85 °C za občasného míchání. Teplota byla sledována digitálním teploměrem. Poté byl vzniklý roztok naléván do plastových kyvet tak aby na vrcholu kyvety vznikl kopeček. Po 45 minutách při laboratorní teplotě byl vrchol kyvety seříznut, tak aby byla plocha na vstupu do kyvety přibližně stejná na všech vzorcích. Po provedení těchto kroků byl gel připravený pro další využití v difúzních experimentech.

#### 4.3 Sorpce $\text{Cu}^{2+}$ do gelu

Čtyři kyvety s gelem byly vloženy do skleněné nádoby s víkem. Kyvety bylo nutné zatížit, pro tyto účely nejlépe sloužily skleněné zátky. V případě, že by nebyly kyvety zatíženy, mohlo by dojít k vynoření kyvety a vysušení gelu. Navíc by difúze neprobíhala rovnoměrně a kyvety by vlivem míchání migrovaly po celé nádobě. Poté bylo možné přilít difúzní roztok měďnatých kationtů o objemu 200  $\text{cm}^3$ . Byly použity 3 koncentrace difúzních roztoků, avšak koncentrace 0,1  $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  byla vyhodnocena jako nejvhodnější pro měření na UV–VIS spektrometru. Jelikož bylo nutné roztok míchat, bylo do nádoby vloženo míchadlo a celá nádoba byla umístěna na magnetickou míchačku. Nádoba byla zakryta víkem a zaizolovaná parafilmem, aby nedocházelo k úniku vodní páry a zakoncentrování difúzního roztoku. Kyvety byly po šesti dnech vytaženy z roztoku a koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  byla změřena UV–VIS spektrometricky, a to v celé délce kyvety. Poté byly kyvety navraceny do nádoby s původním roztokem  $\text{Cu}^{2+}$ . Tato měření byla ukončena 41. den, kdy došlo k vyrovnání koncentrace v celé délce kyvety, což bylo i záměrem tohoto měření.

#### 4.4 Sorpce $\text{Cu}^{2+}$ z gelu

Čtveřice kyvet s gelem byly ponořeny do roztoku  $\text{Cu}^{2+}$  o koncentraci  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Kyvety byly zatíženy a bylo přidáno míchadlo. Nádoba byla zaizolována parafilmem a umístěna na magnetickou míchačku. Po třiceti dnech, byly kyvety proměřeny na UV-VIS spektrometru, pro ověření, že koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  je stejná v celé délce kyvety. Poté byly kyvety ponořeny do destilované vody o objemu  $100 \text{ cm}^3$ . Celá nádoba s kyvetami byla opět umístěna na míchačku a zaizolovaná parafilmem. Po 20. hodinách experimentu byly kyvety opět změřeny na UV-VIS spektrometru a poté vloženy zpátky do původního roztoku. Byla proměřena taky absorbance roztoku. Měření se opakovalo po 40. a 70. hodině experimentu. Z naměřených absorbancí byly vypočteny koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  v gelu. Po celou dobu experimentu byla nádoba zaizolována parafilmem a roztok byl míchán při 250 otáčkách za minutu. Na obrázku 10 je možné pozorovat úbytek  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v horní oblasti kyvety.



Obrázek 10: Kyveta s huminovým gelem a  $\text{Cu}^{2+}$  ionty.

#### 4.5 Spektrofotometrická měření

Pro stanovení koncentrace měďnatých kationtů bylo zapotřebí změřit absorbance gelů i roztoků. Absorbance byly měřeny na UV-VIS spektrofotometru Varian Cary 50. Pomocí zásuvného modulu bylo možné přesně vertikálně posunovat kyvetu s gelem a měřit tak absorbance v různých polohách. Absorpční spektrum bylo měřeno od 300 nm do 900 nm a jako blank sloužila destilovaná voda. Na zásuvném modulu bylo možné pomocí měřítka vymezit polohu, ve které bude paprsek dopadat na vzorek. Kyveta tedy byla proměřena od 45 mm po 84 mm na měřítku. Blank a vzorky roztoků byly měřeny na 55. mm škály modulu.

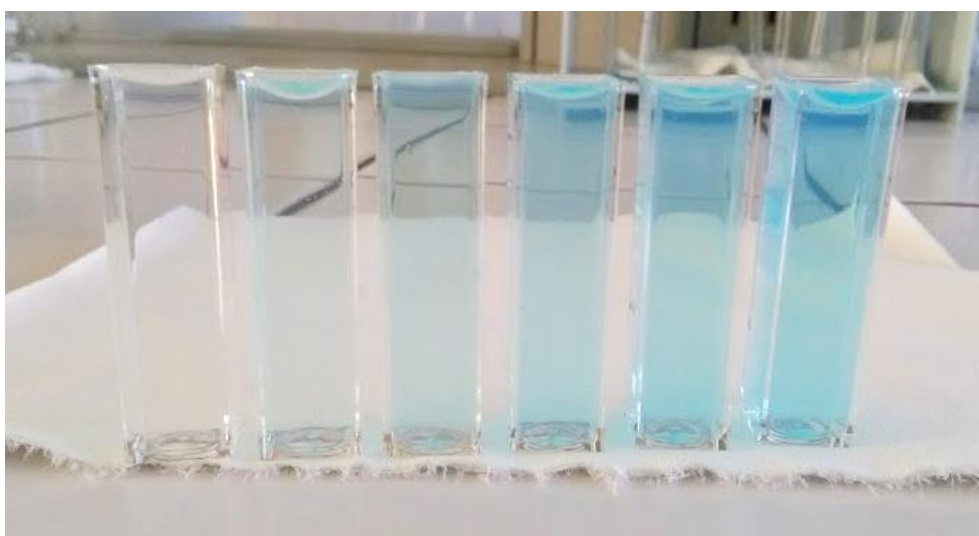
Standardy huminových látek byly také podrobeny infračervené spektroskopii s Fourierovou transformací. Na měření bylo potřeba smíchat 2 mg huminové kyseliny s 200 mg vyžíhaného KBr. Měření infračervených spekter probíhalo metodou DRIFTS.

#### 4.6 Kalibrační řady

Vyhodnocení koncentrace by nebylo možné bez kalibračních přímek, proto bylo potřeba uskutečnit další měření absorpčních spekter samotných roztoků měďnatých kationtů i gelů s obsahem  $\text{Cu}^{2+}$ .

Napřed bylo naváženo potřebné množství  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Po rozpuštění v destilované vodě o objemu  $100 \text{ cm}^3$ , vznikl roztok o daných koncentracích.

Pro přípravu kalibrační řady gelu s obsahem  $\text{Cu}^{2+}$  bylo nutné připravit gely následovně. K 0,1 g agarosu bylo přidáno  $10 \text{ cm}^3$  roztoku  $\text{Cu}^{2+}$  iontů, v případě huminového gelu  $1 \text{ cm}^3$  roztoku huminových kyselin a  $9 \text{ cm}^3$  roztoku  $\text{Cu}^{2+}$ . Roztok byl po zahřátí k teplotě  $85^\circ\text{C}$  převeden do kyvety. Po 45 minutách bylo možné změřit absorpční spektra gelů. Připravené agarosové gely bez přídavku huminové kyseliny jsou zachyceny na obrázku 11.



*Obrázek 11: Vzorky agarosového gelu kalibrační řady.*



## 5 VÝSLEDKY A DISKUSE

### 5.1 Charakterizace huminových kyselin

Pro pochopení chování huminových kyselin je nutné znát informace o jejich struktuře a složení. Elementární analýzou je možné zjistit zastoupení jednotlivých prvků tvořící huminové kyseliny. Data byla získána z webových stránek IHSS [39]. Po úpravě a přepočtu jsou data zobrazena v tabulce 2.

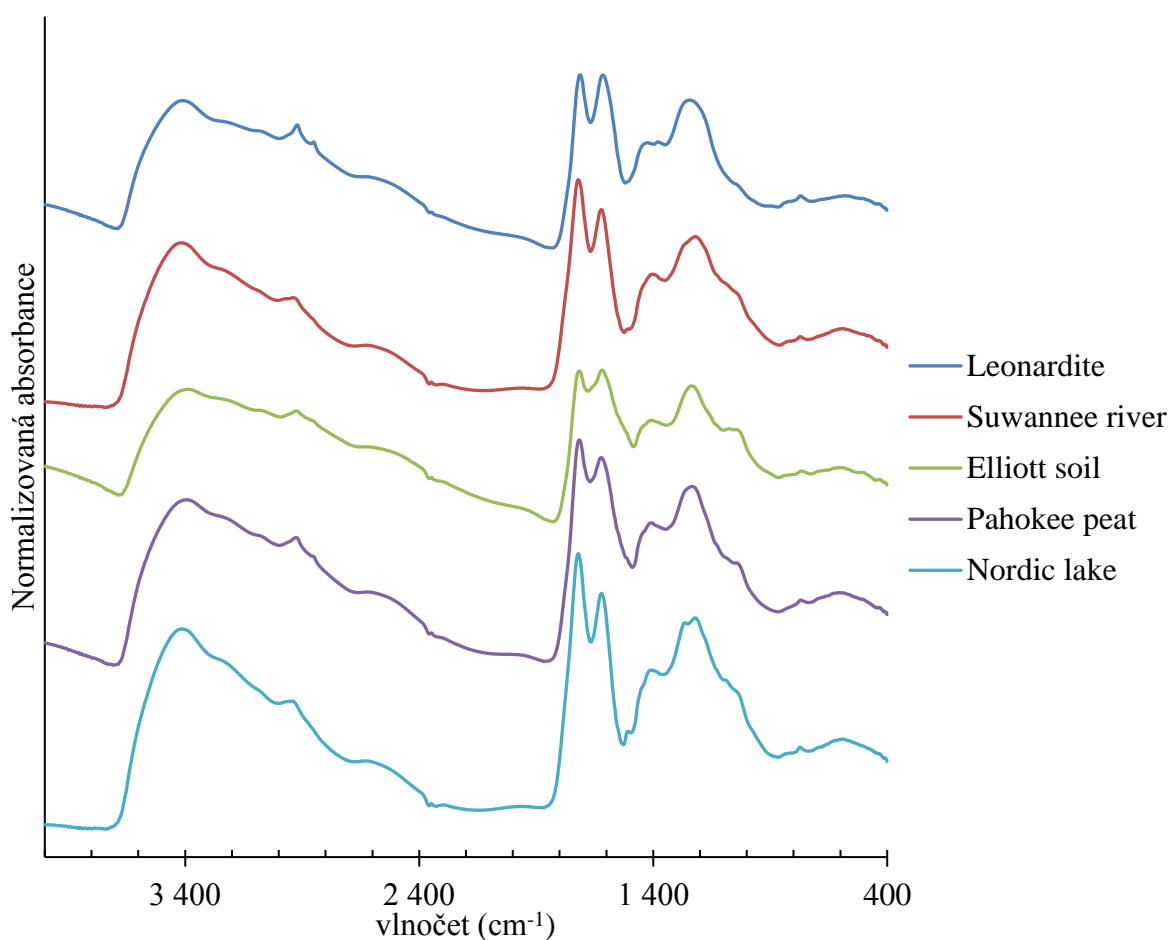
Tabulka 2: Výsledky elementární analýzy

huminová kyselina	C (at. %)	H (at. %)	O (at. %)	N (at. %)	C/H	C/O
Leonardite	48,18	33,29	17,73	0,80	1,45	2,72
Suwannee River	38,64	37,45	23,17	0,74	1,03	1,67
Elliott Soil	44,34	33,44	19,51	2,71	1,33	2,27
Pahokee Peat	42,36	34,20	21,06	2,38	1,24	2,01
Nordic Lake	39,80	35,31	24,14	0,74	1,13	1,65

Tabulka 2 vystihuje hodnoty atomových procent. Z tabulky je patrné, že základem huminových kyselin je uhlík. Menší zastoupení uhlíku je zřetelné u huminových kyselin z vodních zdrojů. To může být způsobeno vyšším obsahem vodíku a kyslíku. To je zřejmé z poměrů uhlíku ke kyslíku a vodíku, kdy huminová kyselina Nordic Lake a Suwannee River mají nejmenší hodnoty těchto poměrů. Vyšší obsah kyslíku naznačuje, že huminová kyselina obsahuje více funkčních skupin (např. karboxylových nebo hydroxylových skupin) ale i heterocykly v jejich struktuře. Množství funkčních skupin schopných vázat ionty těžkých kovů jsou stěžejní informací, neboť i díky ní lze posuzovat do jaké míry má huminová kyselina vliv na sorpci iontů. Obsah vodíku napovídá, zda je tvořena struktura alifatickými řetězci nebo aromatickými cykly. V případě vysoké hodnoty C/H u huminových kyselin typu Leonardite nebo Elliott Soil, můžeme uvažovat spíše aromatickou strukturu. V takové struktuře také můžeme očekávat vyšší zastoupení dvojných a trojných vazeb. Obsah vodíku ve sloučenině je také ovlivněn rozvětveností alifatické struktury, proto je nutné zohlednit i tento účinek.

Další analytickou metodou pro charakterizaci huminových kyselin je infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací. Pro tuto diplomovou práci byla použita metoda *Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy*, zkráceně DRIFTS. Naměřená spektra jsou zobrazena na obrázku 12. Absorpční pás v rozmezí vlnočtů  $3600\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$  je výhradně připisován valenčním vibracím O–H a N–H vazeb vyskytujících se v karboxylových kyselinách, fenolech, alkoholech a také v primárních a sekundárních amidech. Píky v oblasti  $2940\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$  je možno přikládat asymetrickým a symetrickým valenčním vibracím vazeb mezi uhlíkem a vodíkem v methylových a methylenových skupinách. Ostrý absorpční pás vyskytující se v oblasti  $1720\text{--}1710\text{ cm}^{-1}$  je důkazem valenčních vibrací C=O skupiny, která se nachází v karboxylových kyselinách a esterech.

Intenzita těchto píků je největší u Nordic Lake a Suwannee River, tedy u huminových kyselin z vodních zdrojů. Důkaz o existenci karbonylových skupin v chinonech a konjugovaných ketonech, je možno postřehnout v oblasti  $1630\text{--}1610\text{ cm}^{-1}$ . Pík kolem  $1410\text{ cm}^{-1}$  odpovídá deformační vibraci O–H nacházející se ve fenolických skupinách. Intenzivního absorpčního pásu si lze všimnout v oblasti  $1240\text{--}1210\text{ cm}^{-1}$ , který dokazuje přítomnost karboxylových a fenolických –OH skupin, konkrétně se přisuzuje valenčním asymetrickým vibracím C–O a deformační vibraci O–H vazeb. V oblasti kolem  $1040\text{ cm}^{-1}$  je u všech huminových kyselin kromě Leonardite pík charakteristický pro valenční symetrické vibrace vazby C–O vyskytující se v primárních alkoholech.

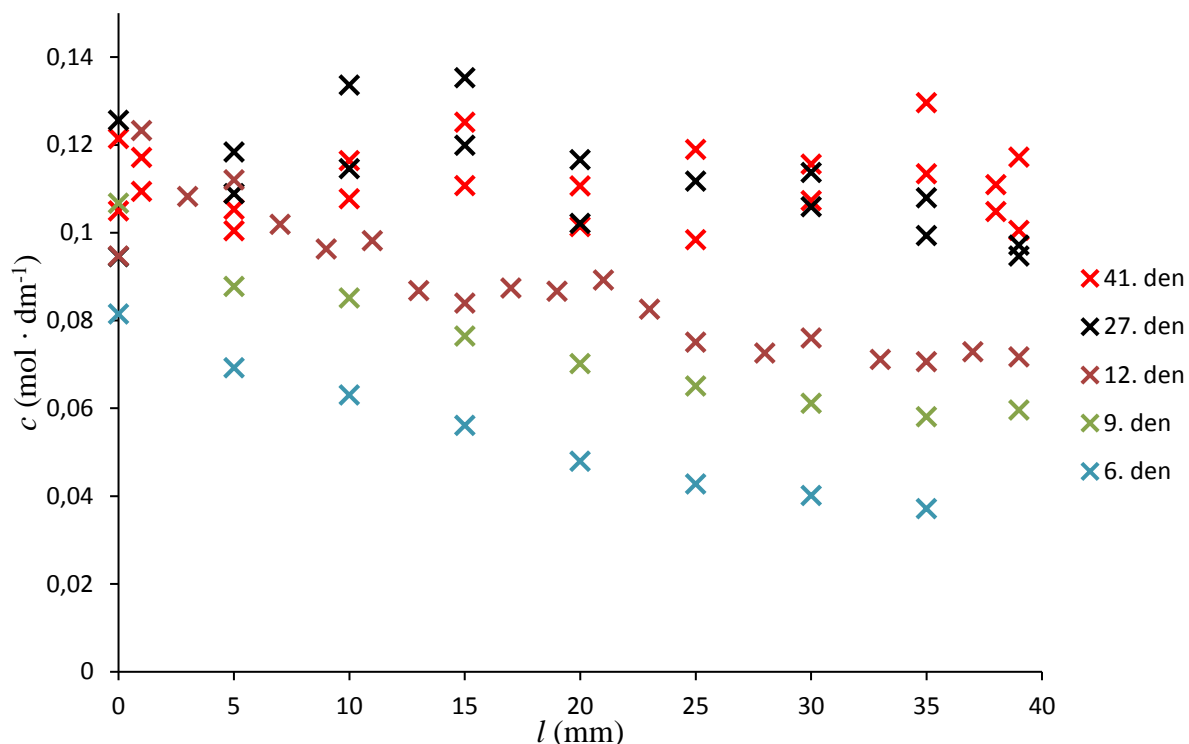


Obrázek 12: FTIR spektra studovaných huminových látek

## 5.2 Sledování sorpce $\text{Cu}^{2+}$ do gelu

Pro zahájení hlavních difúzních experimentů této práce, bylo nutné připravit hydrogely s nasorbovanými měďnatými kationty. Napřed byly testovány roztoky o koncentraci 1 a  $0,5\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . U těchto koncentracích se však zjistilo, že ačkoliv při ponoření gelu do roztoku došlo k nasorbování  $\text{Cu}^{2+}$  během několika hodin, naměřené absorbance byly nad hodnotou měřitelnosti UV–VIS spektrofotometru. To mělo za následek hledání nižší ideální koncentrace, která byla ustanovena na hodnotě  $0,1\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

Zvolení takto nízké koncentrace se projevilo v především v časové náročnosti experimentu, kdy trvalo 30 dnů, než koncentrace v celém obsahu kyvety dosáhla  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Celkový průběh sorpce do čistého agarosového gelu je zřejmý z grafu na obrázku 13. Měření bylo orientační, z toho důvodu byl použit pouze čistý agarosový gel a huminový gel Leonardite.

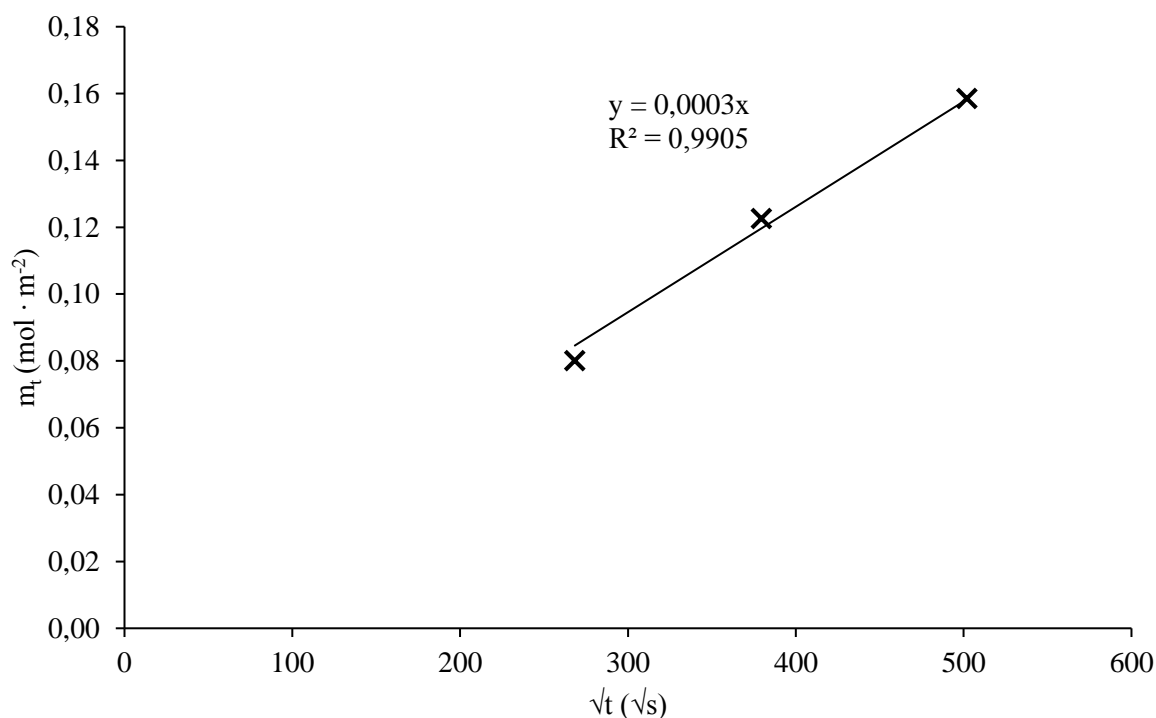


Obrázek 13: Průběh sorpce  $\text{Cu}^{2+}$  iontů do čistého agarosového hydrogelu

Z obrázku 13 je patrné, že koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v gelu dosáhla koncentrace nepatrně vyšší, než  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Příčinou bylo odpařování vody z roztoku, což mělo za následek zvýšení koncentrace roztoku  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. Přes to, že nádoba byla zakryta víkem, bylo v dalších experimentech nutné nádoby zaizolovat také parafilmem, tak aby se předešlo obdobným chybám.

### 5.3 Vyhodnocení difúzních experimentů

V této diplomové práci byla sledována desorpce  $\text{Cu}^{2+}$  iontů do destilované vody z huminových hydrogelů. Bylo použito 5 huminových kyselin a jeden srovnávací čistý agarosový gel bez přídavku huminové kyseliny. Experiment byl měřen vždy na začátku a v průběhu po 20., 40., a 70. hodině od začátku experimentu. Z naměřených koncentrací měďnatých iontů, které byly uvolňovány z gelu do destilované vody bylo možné spočítat difúzní koeficienty podle rovnice 27. Pokud vytvoříme graf závislosti molárního toku na odmocnině času, kdy byla koncentrace roztoku změřena, získáme směrnici, ze které jsme schopni získat difúzní koeficient. Jeden z těchto grafů, konkrétně pro huminový hydrogel Suwannee River, je znázorněn na obrázku 14.



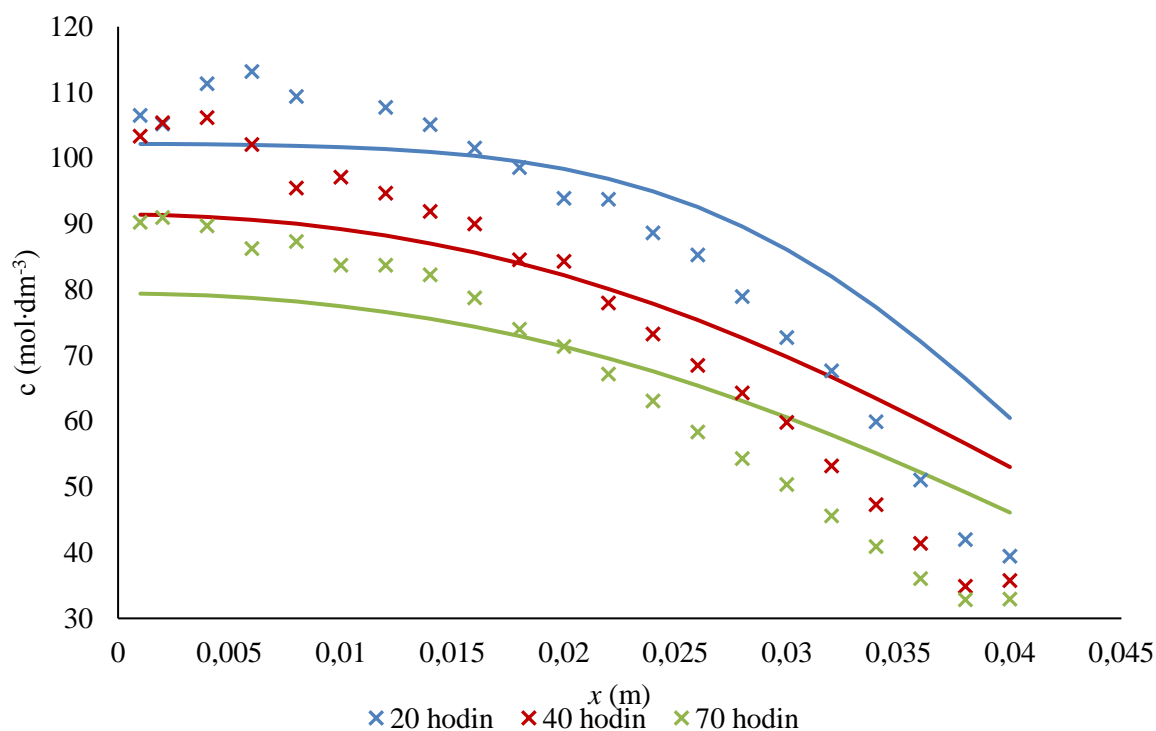
Obrázek 14: Graf závislosti molárního toku na odmocnině času pro huminový gel Leonardite

Přehled difúzních koeficientů získaných touto metodou je zobrazen v tabulce 3. Hodnoty získané z rovnice 27 jsou příliš nízké. Pro získání přesnějších a plnohodnotnějších hodnot difúzních koeficientů jsou měření koncentrace roztoků po 20., 40. a 70. hodině nedostačující. Proto nelze brát výstupy z této metody jako přesné a zcela uspokojivé.

Tabulka 3: Přehled difúzních koeficientů.

hydrogel	D ( $\cdot 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )
čistý	1,115
Leonardite	1,002
Elliott Soil	0,703
Suwannee River	0,812
Pahokee Peat	0,915
Nordic Lake	1,022

Stěžejní činností této diplomové práce však nebylo měření koncentrace roztoků, nýbrž sledování koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v hydrogelech v závislosti na čase. Z naměřených dat bylo možné vypočítat difúzní koeficienty jednotlivých hydrogelů za pomoci metody difúze v rovinné desce a aplikování rovnice 28.



Obrázek 15: Průběh difúze z gelu Leonardite a proložení dat pomocí vzorce 28.

Vzorové vyhodnocení pomocí Microsoft Office Excel, konkrétně funkce Řešitel, je možné vidět na obrázku 15. Na první pohled je zřejmé, že nejdokonalější proložení je u měření po 20 hodinách, avšak ani to není naprosto dokonalé a vypočtená hodnota difúzních koeficientu není zcela přesná. Při měření po 40. a 70. hodině nedošlo k příliš dokonalému proložení pomocí doplňku Řešitel a nalezené difúzní koeficienty nejsou spolehlivé. Všechny vypočtené difúzní koeficienty včetně odchylky jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4: Přehled difúzních koeficientů

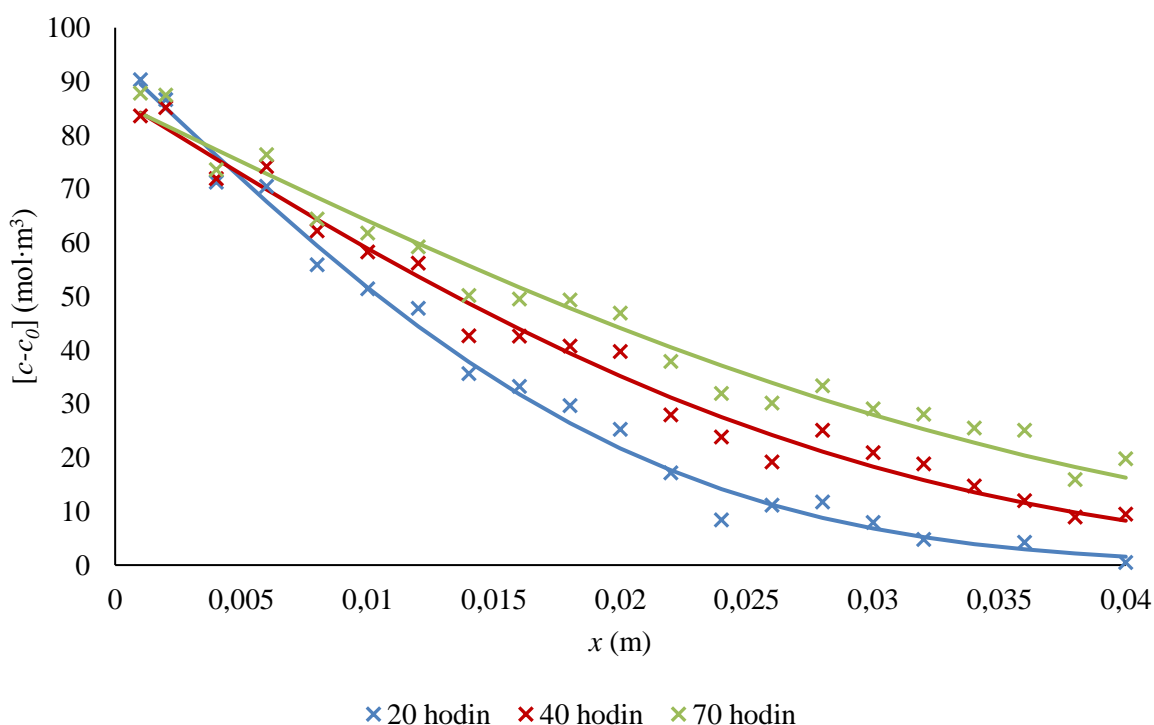
hydrogel		20 hodin $D (\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$	40 hodin $D (\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$	70 hodin $D (\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$
čistý	průměr	10,35	7,45	4,20
	odchylka	5,64	1,25	0,28
Leonardite	průměr	6,16	5,23	3,08
	odchylka	1,25	0,50	0,23
Elliott Soil	průměr	5,93	5,44	3,23
	odchylka	1,10	0,54	0,27
Suwannee River	průměr	6,04	6,27	4,02
	odchylka	1,04	0,52	0,37
Pahokee Peat	průměr	8,55	5,95	3,92
	odchylka	2,50	0,63	0,48
Nordic Lake	průměr	7,21	5,80	3,93
	odchylka	3,14	0,72	0,32

Neideální proložení naměřených dat má tedy za následek zkreslené hodnoty difúzních koeficientů v tabulce 4. Difúzní koeficienty se navíc s každým měřením zmenšují, proto je možné za nej přesnější považovat hodnoty naměřené po 20. hodinách. Snižování difúzních koeficientů nemusí být nutně chybou nedostatečného proložení modelových dat. Jelikož se v průběhu experimentu zvyšovala koncentrace měďnatých iontů v roztoku, snižoval se koncentrační gradient, známý jako hnací síla difúze. S vyrovnáváním koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  v roztoku a gelu mohlo dojít ke zpomalení difúze, což se projevilo ve snižování difúzních koeficientů s časem.

Přesnost výpočtu difúzního koeficientu pomocí metody difúze rovinné desky nebyla uspokojivá, proto bylo nutné zvolit jinou metodu pro výpočet. Jelikož se koncentrace měďnatých kationtů na konci kyvety neměnila, bylo možné provést výpočet metodou difúze konstantního zdroje. Byl použit vzorec 26, a jelikož je nám známa i koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  uvolněná z gelu do roztoku, můžeme využít i rovnici 27. Navíc bylo možné odvodit třetí možnost řešení podle vzorce 29.

$$[c_0 - c] = c_0 \operatorname{erfc} \frac{x}{2\sqrt{Dt}}. \quad (29)$$

Difúzní koeficient byl opět nalezen pomocí doplňku Řešitel softwaru Microsoft Office Excel. Obrázek 16 znázorňuje výsledky použití rovnice 26 a proložení grafu Řešitelem.



Obrázek 16: Průběh difúze  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z huminového hydrogelu a proložení vzorcem 29.

Hodnoty na ose y odpovídají rozdílu koncentrací v měřený čas a koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů na začátku experimentu. Z obrázku je patrné, že proložení naměřených bodů je uspokojivé a hodnota difúzních koeficientů by tak měla odpovídat skutečné hodnotě. Přesto, že křivky naměřených dat v různých časech nejsou zcela identické, vychází difúzní koeficienty velmi

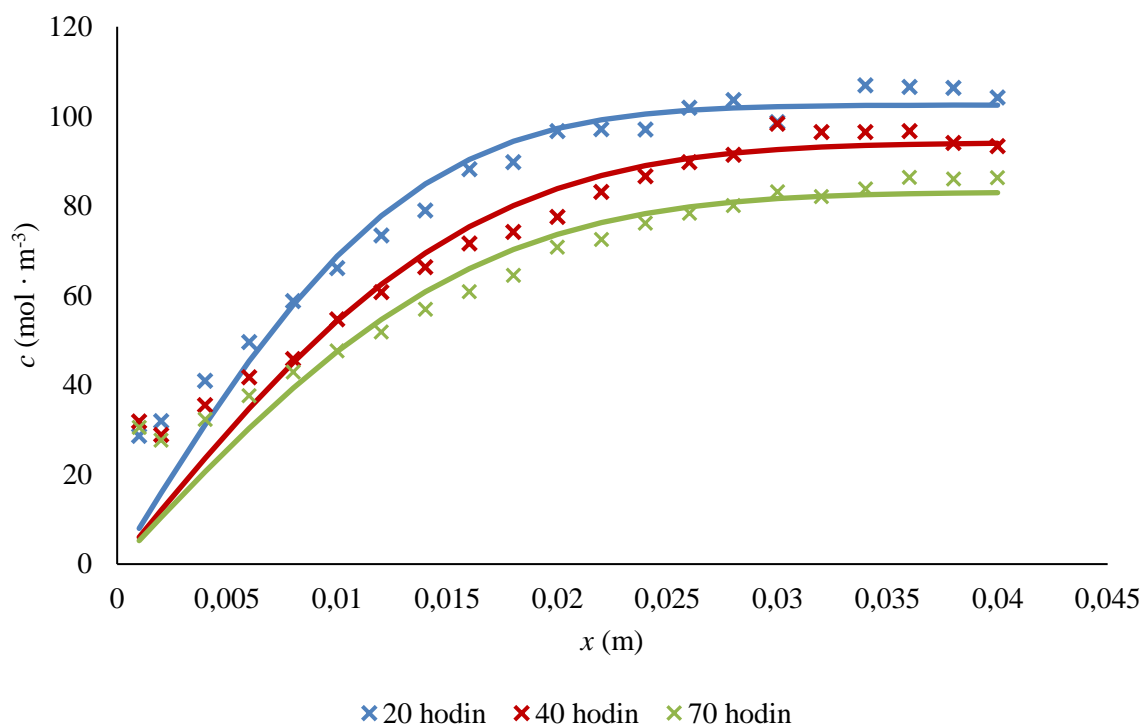
podobně. Jak ukazuje tabulka 5, hodnoty difúzních koeficientů se příliš neliší ani v závislosti na čase. Přesnost této metody může být způsobena zohledněním původní koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v gelu, která je značena jako  $c_0$ .

Tabulka 5: Přehled difúzních koeficientů

hydrogel		20 hodin $D (\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$	40 hodin $D (\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$	70 hodin $D (\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$
čistý	<b>průměr</b>	<b>19,46</b>	<b>16,43</b>	<b>19,56</b>
	odchylka	5,53	2,32	2,58
Leonardite	<b>průměr</b>	<b>17,12</b>	<b>16,45</b>	<b>18,78</b>
	odchylka	4,52	3,58	3,11
Elliott Soil	<b>průměr</b>	<b>12,98</b>	<b>12,72</b>	<b>14,90</b>
	odchylka	1,85	1,27	1,11
Suwannee River	<b>průměr</b>	<b>13,09</b>	<b>13,48</b>	<b>14,64</b>
	odchylka	2,22	1,16	0,83
Pahokee Peat	<b>průměr</b>	<b>18,98</b>	<b>18,10</b>	<b>18,22</b>
	odchylka	2,65	2,50	1,98
Nordic Lake	<b>průměr</b>	<b>16,64</b>	<b>16,72</b>	<b>17,13</b>
	odchylka	3,06	2,02	2,03

S ohledem na čas měření experimentu, jsou hodnoty difúzních koeficientů pro jednotlivé hydrogely téměř konstantní. To je v rozporu s dalšími metodami, které jsou aplikovány v této práci. Při srovnání této metody, která vyplývá z difúze konstantního zdroje, s metodou difúze v rovinné desce, je patrné, že difúzní koeficienty získané aplikací rovnice 29 jsou přibližně o  $10 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  větší.

Přes uspokojivé výsledky poslední metody bylo potřeba ověřit data a zjistit hodnotu difúzních koeficientů dalším způsobem vycházejícím z rovnice 26. Řešení této rovnice bylo rovněž nalezeno doplňkem Řešitel, který přísluší programu Microsoft Office Excel.



Obrázek 17: Průběh difúze  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z huminového hydrogelu Pahokee Peat podle rovnice 26.

Z křivek na obrázku 17 je patrné, že i v tomto případě je proložení experimentálních dat vypočtenými křivkami uspokojivé. Viditelné rozdíly jsou pouze na začátku křivky, kdy v experimentech nebylo možné dosáhnout nulové koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. Proto se pravděpodobně i tento nedostatek projevil ve výsledných hodnotách difúzních koeficientů a nelze je tak považovat za naprosto přesné. Konkrétní hodnoty difúzních koeficientů všech hydrogelů pro tuto metodu řešenou rovnicí 26 jsou shrnuty v tabulce 6

Tabulka 6: Přehled difúzních koeficientů

hydrogel		20 hodin $D (\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$	40 hodin $D (\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$	70 hodin $D (\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$
čistý	průměr	10,35	7,45	4,20
	odchylka	5,64	1,25	0,28
Leonardite	průměr	6,16	5,23	3,08
	odchylka	1,25	0,50	0,23
Elliott Soil	průměr	5,93	5,44	3,23
	odchylka	1,10	0,54	0,27
Suwannee River	průměr	6,04	6,27	4,02
	odchylka	1,04	0,52	0,37
Pahokee Peat	průměr	8,55	5,95	3,92
	odchylka	2,50	0,63	0,48
Nordic Lake	průměr	7,21	5,80	3,93
	odchylka	3,14	0,72	0,32



Hodnoty difúzních koeficientů v tabulce 6 závisí na čase, kdy byly data měřeny. To může být způsobeno zvyšováním koncentrace měďnatých kationtů v roztoku, což má za následek vyrovnávání koncentrace v gelu a roztoku, zpomalování difúze a tedy snižování difúzního koeficientu.

#### 5.4 Výsledky difúzních experimentů

Jedním z úkolů diplomové práce je zhodnotit hydrogely obohacené o huminové kyseliny na základě jejich sorpčních schopností, které vyplývají z difúzních koeficientů získaných pro každý huminový gel i gel bez přídavku huminových kyselin. Čistý agarosový gel neobohacený o huminové kyseliny sloužil jako srovnávací vzorek, díky němu je snazší pochopit děje probíhající v hydrogelech obecně a porovnat rozdíly s huminovými gely. Čistý agarosový gel měl koncentraci 1 hm. % a obsahoval 0 hm. % huminových kyselin. Data získaná z difúzních experimentů byla řešena celkem čtyřmi metodami, které jsou podrobněji vysvětleny a probrány výše. Hodnoty difúzních experimentů jsou shrnuty v tabulce 7.

*Tabulka 7: Shrnutí difúzních koeficientů pro čistý agarosový hydrogel.*

metoda	vzorec		$D_{20}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	$D_{40}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	$D_{70}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )
konstantní zdroj	27	<b>průměr</b>	<b>0,11</b>		
konstantní zdroj	26	<b>průměr</b>	<b>10,35</b>	<b>7,45</b>	<b>4,20</b>
		odchylka	5,64	1,25	0,28
konstantní zdroj	29	<b>průměr</b>	<b>19,46</b>	<b>16,43</b>	<b>19,56</b>
		odchylka	5,53	2,32	2,58
rovinná deska	28	<b>průměr</b>	<b>28,36</b>	<b>15,06</b>	<b>8,85</b>
		odchylka	1,36	0,41	0,10

Z předchozího přehledu metod je jasné, že nejpřesnější metodou stanovení difúzního koeficientu je metoda konstantního zdroje, konkrétně podle vzorce 26 a 29. Přesto jsou stanovené difúzní koeficienty rozdílné o 10 až  $15 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . Za předpokladu, že by se rychlost difúze v čase neměnila, jelikož vzrůst koncentrace je zanedbatelně malý, je jediná přesná a korektní metoda konstantního zdroje. Pro čistý agarosový gel je průměrný difúzní koeficient stanoven na  $18,48 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . Rychlost difúze v gelu bez přídavku huminových kyselin by měla být obecně větší než v huminovém gelu, neboť čistý hydrogel neobsahuje huminové kyseliny s funkčními skupinami schopnými měďnaté ionty imobilizovat. Toto pravidlo se projevilo u všech použitých metod.

Dalším zkoumaným hydrogelem byl s obsahem 0,01 hm. % huminové kyseliny Leonardite. Huminová kyselina Leonardite se z výsledků elementární analýzy vyznačuje nízkým obsahem kyslíku. To může být způsobeno malým zastoupením karboxylových, hydroxylových anebo fenolických funkčních skupin. U této huminové kyseliny se dá očekávat nízká imobilizační schopnost vůči měďnatým iontům z důvodu nízkého zastoupení skupin tvořících s ionty vazebné interakce. Přehled difúzních koeficientů získaných pro huminový gel Leonardite je v tabulce 8.

Tabulka 8: Souhrn difúzních koeficientů pro huminový gel Leonardite

metoda	vzorec		$D_{20}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	$D_{40}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	$D_{70}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )
konstantní zdroj	27	<b>průměr</b>	<b>0,10</b>		
konstantní zdroj	26	<b>průměr</b>	<b>6,16</b>	<b>5,23</b>	<b>3,08</b>
		odchylka	1,25	0,50	0,23
konstantní zdroj	29	<b>průměr</b>	<b>17,12</b>	<b>16,45</b>	<b>18,78</b>
		odchylka	4,52	3,58	3,11
rovinná deska	28	<b>průměr</b>	<b>24,95</b>	<b>15,08</b>	<b>8,85</b>
		odchylka	5,51	0,34	0,08

Z naměřených dat byly získány difúzní koeficienty čtyřmi různými metodami, které jsou zobrazeny v tabulce 8. I v tomto případě je nejpřesnější metoda stanovení difúzního koeficientu podle rovnice 29. Protože huminová kyselina Leonardite neobsahuje příliš mnoho funkčních skupin schopných vázat měďnaté kationty je průměrná hodnota  $17,45 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  velice blízká difúznímu koeficientu stanoveného pro čistý hydrogel s nulovým obsahem huminové kyseliny. V tomto případě má huminová kyselina malý vliv na imobilizaci těžkých kovů a ionty proto mohou difundovat z gelu rychleji. Proto jsou difúzní koeficienty určené jednotlivými metodami větší než v čistém agarovém hydrogelu.

Huminová kyselina Elliott Soil je také příznačná svým nižším zastoupením funkčních skupin obsahujících ve své struktuře kyslík. To také vyplývá ze spekter infračervené spektrometrie, kde píky charakteristické pro funkční skupiny obsahující kyslík nejsou ve srovnání s ostatními huminovými kyselinami příliš intenzivní. Elliott Soil se podle prvkové analýzy vyznačuje vysokým obsahem dusíku ve své struktuře. To by naznačovalo výskytu například amidových nebo nitrilových skupin, které se mohou podílet na imobilizaci měďnatých iontů. Přehled vypočtených difúzních koeficientů je v tabulce 9.

Tabulka 9: Shrnutí difúzních koeficientů pro huminový gel Elliott Soil

metoda	vzorec		$D_{20}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	$D_{40}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	$D_{70}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )
konstantní zdroj	27	<b>průměr</b>	<b>0,07</b>		
konstantní zdroj	26	<b>průměr</b>	<b>5,93</b>	<b>5,44</b>	<b>3,23</b>
		odchylka	1,10	0,54	0,27
konstantní zdroj	29	<b>průměr</b>	<b>12,98</b>	<b>12,72</b>	<b>14,85</b>
		odchylka	1,85	1,27	1,04
rovinná deska	28	<b>průměr</b>	<b>26,41</b>	<b>15,07</b>	<b>8,75</b>
		odchylka	2,39	0,59	0,13

Průměrná hodnota difúzního koeficientu stanovená na  $13,52 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . Koeficient byl určen podle rovnice 29, metodou konstantního zdroje. Difúze tedy probíhá pomaleji než v huminovém hydrogelu Leonardite a pravděpodobně dochází k imobilizaci  $\text{Cu}^{2+}$  iontů funkčními skupinami.

Další studovanou huminovou kyselinou ze skupiny standardů organizace IHSS je Suwannee River. Jedná se o huminovou kyselinu izolovanou z vodních zdrojů, které se vyznačují menší molekulovou hmotností a vyšším zastoupením funkčních skupin kyselé povahy. Proto lze očekávat zvýšenou imobilizační schopnost iontů. Tabulka 10 zobrazuje shrnutí získaných difúzních experimentů čtyřmi odlišnými metodami výpočtů.

*Tabulka 10: Shrnutí difúzních koeficientů pro huminový gel Suwannee River*

<b>metoda</b>	<b>vzorec</b>		<b>D<sub>20</sub> hodin</b> ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	<b>D<sub>40</sub> hodin</b> ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	<b>D<sub>70</sub> hodin</b> ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )
konstantní zdroj	27	<b>průměr</b>	<b>0,08</b>		
konstantní zdroj	26	<b>průměr</b>	<b>6,04</b>	<b>6,27</b>	<b>4,02</b>
		odchylka	1,04	0,52	0,37
konstantní zdroj	29	<b>průměr</b>	<b>13,09</b>	<b>13,48</b>	<b>14,64</b>
		odchylka	2,22	1,16	0,83
rovinná deska	28	<b>průměr</b>	<b>25,25</b>	<b>15,03</b>	<b>8,83</b>
		odchylka	1,61	0,40	0,08

Průměrný difúzní koeficient získaný z rovnice 29, která byla vyhodnocena jako nejspolehlivější, činí  $13,74 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . Tato hodnota je srovnatelná s difúzním koeficientem huminového hydrogelu Elliott Soil, ačkoli zastoupení funkčních skupin podílejících se na imobilizaci, je zásadně odlišné.

Huminová kyselina Pahokee Peat byla izolována z rašeliny, proto je jedinečná svým původem. Elementární analýza ukazuje vysoký obsah dusíku ve své struktuře, navíc ze spektra FTIR spektrometrie lze usoudit na vysoký obsah karboxylových a hydroxylových skupin, které by se mohly podílet na vazebných interakcích s kovovými ionty. Srovnání všech použitých metod pro výpočet difúzních koeficientů je v tabulce 11.

Tabulka 11: Shrnutí difúzních koeficientů pro huminový gel Pahokee Peat

metoda	vzorec		$D_{20}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	$D_{40}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	$D_{70}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )
konstantní zdroj	27	<b>průměr</b>	<b>0,09</b>		
konstantní zdroj	26	<b>průměr</b>	<b>8,55</b>	<b>5,95</b>	<b>3,92</b>
		odchylka	2,50	0,63	0,48
konstantní zdroj	29	<b>průměr</b>	<b>18,98</b>	<b>18,10</b>	<b>18,22</b>
		odchylka	2,65	2,50	1,98
rovinná deska	28	<b>průměr</b>	<b>27,65</b>	<b>14,74</b>	<b>8,89</b>
		odchylka	1,27	0,15	0,19

Průměrná hodnota difúzního koeficientu získána z rovnice 29 je  $18,43 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . Jedná se tedy o jednu z nejvyšších hodnot pro huminové gely. Huminový gel Pahokee Peat vykazuje nízkou imobilizační schopnost vůči měďnatým kationtům, které tak v gelu mohou difundovat poměrně snadno.

Posledním standardním vzorkem huminové kyseliny použité v této práci je Nordic Lake. Tato huminová kyselina se spolu se Suwannee River řadí mezi huminové kyseliny z vodních zdrojů. Jak už bylo zmíněno, pro huminové kyseliny izolované z vodních zdrojů je charakteristická nižší molekulová hmotnost a větší obsah funkčních skupin obsahujících kyslík, jako například karboxylové, hydroxylové nebo etherové skupiny. Huminová kyselina Nordic Lake se vyznačuje nejvyšším obsahem kyslíku vzhledem k zastoupení uhlíku ve struktuře. Obsah karboxylových a hydroxylových skupin lze usuzovat také z intenzivních píků FTIR spektra. Proto lze u huminové kyseliny Nordic Lake očekávat vyšší imobilizační schopnost měďnatých kationtů. Vypočtené difúzní koeficienty jsou shrnuty v tabulce 12.

Tabulka 12: Shrnutí difúzních koeficientů pro huminový gel Nordic Lake

metoda	vzorec		$D_{20}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	$D_{40}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	$D_{70}$ hodin ( $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )
konstantní zdroj	27	<b>průměr</b>	<b>0,102</b>		
konstantní zdroj	26	<b>průměr</b>	<b>7,21</b>	<b>5,80</b>	<b>3,93</b>
		odchylka	3,14	0,72	0,32
konstantní zdroj	29	<b>průměr</b>	<b>16,64</b>	<b>16,72</b>	<b>17,13</b>
		odchylka	3,06	2,02	2,03
rovinná deska	28	<b>průměr</b>	<b>25,39</b>	<b>14,99</b>	<b>8,95</b>
		odchylka	2,40	0,29	0,18

Průměrná hodnota difúzního koeficientu, vyřešená z rovnice 29 činí  $16,82 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . V porovnání s ostatními huminovými kyselinami se jedná o průměrnou hodnotu. Větší imobilizační schopnost a tedy i nižší difúzní koeficient měly pouze huminové kyseliny řady

Suwannee River a Elliott Soil, a to o více jak  $3 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . I přes své vlastnosti vyplývající z charakterizace této huminové kyseliny je překvapivé, že předpokládaný obsah funkčních skupin, podílejících se na imobilizaci  $\text{Cu}^{2+}$  iontů, se neprojevil na výsledné hodnotě difúzního koeficientu.

## 6 ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývá bariérovými vlastnostmi hydrogelů. Agarosové hydrogely byly obohaceny o pět různých huminových kyselin z řad standardů společnosti IHSS. Huminové kyseliny mohou díky svým unikátním vlastnostem tvořit vazebné interakce s různými polutanty včetně iontů těžkých kovů. Stěžejním úkolem bylo sledování afinity měďnatých kationtů v huminových hydrogelech a zpracování výsledků různými difúzními metodami. Naměřená data byla vyhodnocena metodou difúze rovinné desky. Tato metoda se neprokázala být naprosto vhodnou, proto byly hledány i jiné postupy řešení. Jako nejpřesnější a nejspolehlivější se prokázala být metoda difúze konstantního zdroje, podle které byly nakonec data zpracována.

Výsledky průměrných difúzních koeficientů jednotlivých huminových hydrogelů byly vždy nižší, než hodnota difúzního koeficientu čistého agarosového hydrogelu neobohaceného o huminové kyseliny. To ukazuje, že huminové kyseliny mají v některých případech i značný vliv na difúzi těžkých kovů. Díky elementární analýze a FTIR spektrometrie zadaných vzorků huminových kyselin bylo možné posoudit, do jaké míry mají díky vazebným interakcím schopnost imobilizovat ionty těžkých kovů. Vysoký obsah karboxylových, hydroxylových, ketonových a dalších funkčních skupin, které jsou charakteristické pro huminové kyseliny, mají velký vliv na sorpci měďnatých kationtů. Avšak ne u všech huminových kyselin se toto pravidlo potvrdilo. Vzorek huminové kyseliny Nordic Lake se i přes vysoký obsah funkčních skupin nezařadil mezi huminové hydrogely s nejnižším difúzním koeficientem, který vypovídá o rychlosti difúze měďnatých iontů v hydrogelu. To lze však vysvětlit přítomností jiných skupin a strukturních útvarů v makromolekule ovlivňujících význam kyselých funkčních skupin v huminových kyselinách.

## 7 SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY

1. CIHLÁŘ, Z. Hydrogels of humic acids. Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Materials Science, 2015. p. 113, supervisor Doc. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.]
2. *International humic substances society* [online]. 2017 [cit. 2017-03-27]. Dostupné z: <http://humic-substances.org/>
3. What are Humic Substances?. IHSS [online]. 2007 [cit. 2017-03-13]. Dostupné z: <http://www.humicsubstances.org/whatarehs.htm>
4. HUMÍNOVÉ KYSELINY. PŮVOD A STRUKTÚRA. *Chemické listy* [online]. 2008, č. 102 [cit. 2017-03-21]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2008\\_04\\_262-268.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2008_04_262-268.pdf)
5. ÚPRAVA VODY S OBSAHEM HUMINOVÝCH LÁTEK. *Chemické listy* [online]. 2010, č. 104 [cit. 2017-03-21]. Dostupné z: [http://www.chemickelisty.cz/docs/full/2010\\_11\\_1015-1022.pdf](http://www.chemickelisty.cz/docs/full/2010_11_1015-1022.pdf)
6. Půdní procesy z hlediska mikromorfologie. Půdní procesy z hlediska mikromorfologie [online]. 2012 [cit. 2017-03-21]. Dostupné z: <http://www2.gli.cas.cz/lisa/outside/webPPP/index2.html>
7. The formation of humic substances. *Soil Humic substances* [online]. Wroclaw [cit. 2017-03-27]. Dostupné z: <http://karnet.up.wroc.pl/~weber/powstaw2.htm>
8. KHAN, Edited by M. Schnitzer and S.U. Soil organic matter. Amsterdam: Elsevier Scientific Pub. Co, 1978. ISBN 9780080869759.
9. WEBER, Jerzy. *Definition of soil organic matter.*, 32.
10. STEVENSON, F. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. 2nd Ed. New York: John Wiley and Sons, c1994, xiii, 496 s. ISBN 0471594741
11. PÉDROT, Mathieu, Aline DIA a Mélanie DAVRANCHE. Dynamic structure of humic substances: Rare earth elements as a fingerprint. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2010, 2(345), 8.
12. FEDOTOV, G. N. a S. A. SHOBA. On the nature of humic substances. *Eurasian Soil Science*. 2015, 48(12), 1292-1299. DOI: 10.1134/S1064229315120066. ISSN 1064-2293. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1134/S1064229315120066>
13. VESELÁ, Lenka, Martin KUBAL, Josef KOZLER a Petra INNEMANOVÁ. Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. *Chemické listy* [online]. Praha: Česká společnost chemická, 2005, č. 99 [cit. 2017-03-29]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2005\\_10\\_711-717.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2005_10_711-717.pdf)
14. PEÑA-MÉNDEZ, Eladia M.; HAVEL, Josef; PATOČKA, Jiří. Humic substances—compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. *J. Appl. Biomed*, 2005, 3.1: 13-24.
15. SEDLÁČEK, Petr. Hydrogely huminových kyselin - experimentální model i aplikační forma [online]. Brno, 2009 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: [https://www.vutbr.cz/www\\_base/zav\\_prace\\_soubor\\_verejne.php?file\\_id=19683](https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=19683).
16. PICCOLO, Alessandro. *The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science.*, 57. DOI: 10.1016/S0065-2113(02)75003-7. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065211302750037>
17. KUCUKERSAN, Seher, et al. The effects of humic acid on egg production and egg traits of laying hen. *Vet. Med*, 2005, 50: 406-410.

18. Pakistan journal of nutrition an official bimonthly publication of ANSInet [online]. 2005 [cit. 2017-03-21]. ISSN 1680-5194. Dostupné z: <http://www.pjbs.org/pjnonline/fin295.pdf>
19. *Rataj Akvaristika* [online]. Šumperk, c2001-2017 [cit. 2017-03-27]. Dostupné z: <https://www.rataj-spj.cz/>
20. SORBENTY NA BÁZI HUMINOVÝCH LÁTEK A CHITOSANU. Chemické listy [online]. 2011, č. 105 [cit. 2017-03-21]. Dostupné z: [http://www.chemickelisty.cz/docs/full/2011\\_12\\_913-917.pdf](http://www.chemickelisty.cz/docs/full/2011_12_913-917.pdf)
21. MUSCOLO, Adele; SIDARI, M.; NARDI, Serenella. Humic substance: relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. *Journal of Geochemical Exploration*, 2013, 129: 57-63.
22. HUMÍNOVÉ KYSELINY. INTERAKCIE HUMÍNOVÝCH KYSELÍN S KONTAMINANTAMI. Chemické listy [online]. 2008, č. 102 [cit. 2017-03-21]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2008\\_05\\_338-345.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2008_05_338-345.pdf)
23. POUCHLÝ, Julius. Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav. Vyd. 3. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-807-0806-746.
24. BARTOVSKÁ, Lidmila. Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav. 5. přeprac. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005, 244 s. ISBN 80-708-0579-X.
25. NOVÁK, Josef. Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz [online]. <http://old.vscht.cz/fch/cz/pomucky/FCH4Mgr.view.pd> [cit. 2017-03-22].
26. Hydrogely - Krotitelé vody jako pomocníci v medicíně. *Hydrogely* [online]. [cit. 2017-03-27]. Dostupné z: <http://www.popularizacevut.cz/Prilohy%20Aktuality/Hydrogely.pdf>
27. BÍLKOVÁ, Kateřina a Blanka KRÁLOVÁ. *Izolace biomakromolekul*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1997. ISBN 80-708-0288-X.
28. *Sigma-Aldrich* [online]. c2017 [cit. 2017-03-27]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/czech-republic.html>
29. VLASÁK, Jan. *Transportní vlastnosti agarózových hydrogelů*. Brno, 2015.
30. SEDLÁČEK, Petr, Jiří SMILEK a Martina KLUČÁKOVÁ. How the interactions with humic acids affect the mobility of ionic dyes in hydrogels – Results from diffusion cells. *Reactive and Functional Polymers* [online]. 2013, vol. 73, issue 11, s. 1500-1509 [cit. 2017-03-19]. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2013.07.008
31. LAIDLER, Keith J. 2003. *Physical chemistry*. 4th ed. Boston: Houghton Mifflin Company, xvii, 1060 s. ISBN 06-181-2341-5
32. HLAVÁČ, Jan. *Základy technologie silikátů*. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1981.
33. SEDLÁČEK, P.: Difúze kovových iontů v huminových gelech. Disertační práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. 2008.
34. KLUČÁKOVÁ, Martina a Michal KALINA. Diffusivity of Cu(II) ions in humic gels – influence of reactive functional groups of humic acids. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2015, **483**, 162-170 [cit. 2017-03-29]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2015.05.041. ISSN 09277757. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775715004367>
35. YANG, Kun, Gangfen MIAO, Wenhao WU, Daohui LIN, Bo PAN, Fengchang WU a Baoshan XING. Sorption of Cu<sup>2+</sup> on humic acids sequentially extracted from a



- sediment. *Chemosphere* [online]. 2015, **138**, 657-663 [cit. 2017-03-29]. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.07.061. ISSN 00456535. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004565351500781X>
36. WANG, Yan, Shiming DING, Mengdan GONG, Shiwei XU, Weimin XU a Chaosheng ZHANG. Diffusion characteristics of agarose hydrogel used in diffusive gradients in thin films for measurements of cations and anions. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2016, **945**, 47-56 [cit. 2017-03-29]. DOI: 10.1016/j.aca.2016.10.003. ISSN 00032670. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267016311679>
37. BALCH, J. a C. GUÉGUEN. Effects of molecular weight on the diffusion coefficient of aquatic dissolved organic matter and humic substances. *Chemosphere* [online]. 2015, **119**, 498-503 [cit. 2017-03-29]. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.07.013. ISSN 00456535. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653514008637>
38. SMILEK, Jiří, Petr SEDLÁČEK, Michal KALINA a Martina KLUČÁKOVÁ. On the role of humic acids' carboxyl groups in the binding of charged organic compounds. *Chemosphere* [online]. 2015, **138**, 503-510 [cit. 2017-03-30]. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.06.093. ISSN 00456535. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653515007134>
39. Elemental Compositions and Stable Isotopic Ratios of IHSS Samples. *International Humic Substances Society* [online]. IHSS, 2017 [cit. 2017-03-24]. Dostupné z: <http://humic-substances.org/elemental-compositions-and-stable-isotopic-ratios-of-ihss-samples/>

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

### 8.1 Seznam použitých symbolů

Symbol	Význam symbolu	Jednotka
R –	organický řetězec	
$t, \tau$	čas	s
$J_i^{dif}$	difúzní tok	$\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$
$u_i^{dif}$	střední rychlost toku částice	$\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$
$c_i$	molární koncentrace částic	$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$
$Di$	difúzní koeficient	$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
$x$	prostorová souřadnice	m
$f_i$	frikční koeficient	$\text{kg} \cdot \text{s}^{-1}$
k	Boltzmannova konstanta	$\text{J} \cdot \text{K}^{-1}$
$T$	teplota	K
$\eta_0$	dynamická viskozita	$\text{Pa} \cdot \text{s}$
$r_i$	poloměr částice	m
$\beta$	koeficient skluzového tření	
$V$	objem	$\text{m}^3$
$S$	plocha	$\text{m}^2$
$\Delta J$	rozdíl difúzních toků	$\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$
$n$	látkové množství	mol
$\pi$	Ludolfovo číslo	
$l$	tloušťka desky, membrány	m
$c_0$	původní koncentrace	$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$
$m$	množství látky v čase a poloze 0	mol
$m_t$	molární tok	$\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$

### 8.2 Seznam použitých zkratk

IHSS	International Humic Substances Society
UV	ultrafialová oblast spektra elektromagnetického záření
VIS	viditelná oblast spektra elektromagnetického záření